

(19) 世界知的所有權機關
國際事務局



(43) 國際公開日
2001 年 2 月 22 日 (22.02.2001)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 01/12643 A1

(51) 國際特許分類⁷: C07H 19/067, C12P 17/16, C12N 1/20, A61K 31/7072, A61P 31/04 // (C12P 17/16, C12R 1:465) (C12N 1/20, C12R 1:465)

博 (NAGANAWA, Hiroshi) [JP/JP]; 〒145-0072 東京都大田区田園調布本町3番17号 Tokyo (JP). 浜田 雅 (HAMADA, Masa) [JP/JP]; 〒160-0003 東京都新宿区本塩町17番2 Tokyo (JP).

(21) 國際出願番号: PCT/JP00/05415

(22) 國際出願日: 2000 年 8 月 11 日 (11.08.2000)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願平11/228866 1999年8月12日(12.08.1999) JP

(71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 財団法人微生物化学研究会(ZAIKAN HOJIN BISEIBUTSU KAGAKU KENKYU KAI) [JP/JP]; 〒141-0021 東京都品川区上大崎3丁目14番23号 Tokyo (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてののみ): 竹内富雄 (TAKEUCHI, Tomio) [JP/JP]; 〒141-0022 東京都品川区東五反田5丁目1番11号 ニューフジマンション 701 Tokyo (JP). 五十嵐雅之 (IGARASHI, Masayuki) [JP/JP]; 〒243-0018 神奈川県厚木市中町4丁目1番4号 厚木グリーンコーポ802号 Kanagawa (JP). 長縄

(74) 代理人: 弁理士 八木田茂, 外(YAGITA, Shigeru et al.); 〒105-0003 東京都港区西新橋1丁目1番15号 物産ビル別館 Tokyo (JP).

(81) 指定国(国内): AE, AG, AL, AU, BA, BB, BG, BR, BZ, CA, CN, CR, CU, CZ, DM, DZ, EE, GD, GE, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KR, LC, LK, LR, LT, LV, MA, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, TR, TT, UA, US, VN, YU, ZA.

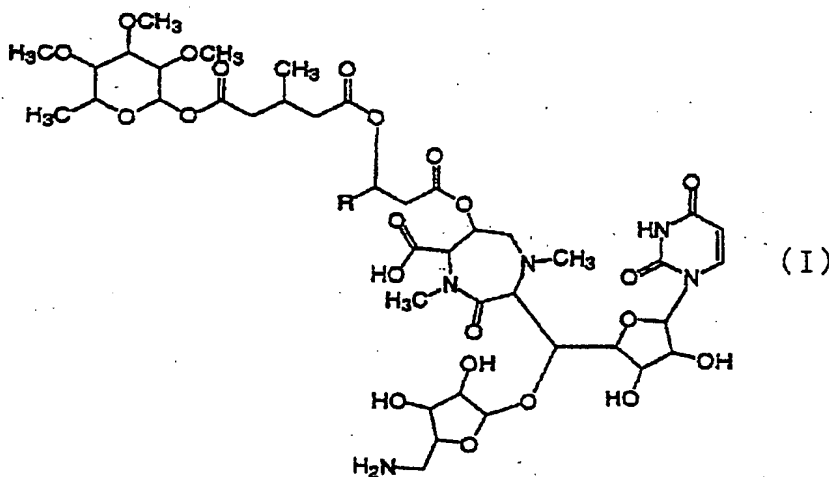
(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類：
一 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: ANTIBIOTIC CAPRAZAMYCINS AND PROCESS FOR PRODUCING THE SAME

(54) 発明の名称: 抗生物質カプラザマイシン類およびその製造法



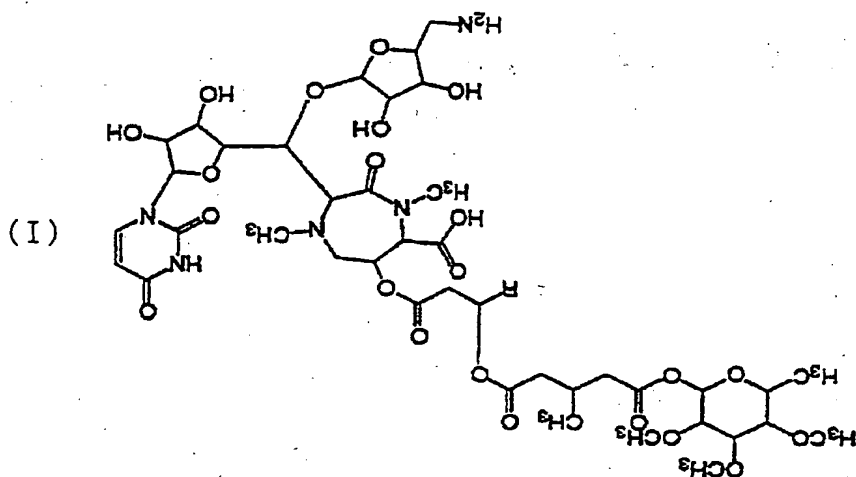
(57) Abstract: Caprazamycins A to F, which are antibiotics represented by general formula (I), are obtained by culturing *Streptomyces* sp. MK730-62F2 (FERM BP-7218). These caprazamycins have excellent antibacterial activities on various mycobacteria, bacteria and drug-tolerant strains thereof. In said formula (I) R represents tridecyl, 11-methyl-dodecyl, etc.

〔続葉有〕

WO 01/12643 A1

THIS PAGE BLANK (USPTO)

次の一般式 (I)



[式中、Rはトリフェシル基、11-メチル-1-ブチル基等である]で示される抗生物質カゾラザイシンA～Fが、ストレプトミセス sp. MK730-62F2 (受託番号FERM BP-7218) の培養により得られた。これらカゾラザイシン類は各種の抗酸性菌、細菌およびそれらの薬剤耐性菌株に対して優れた抗菌活性を有する。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

明 細 書

抗生物質カプラザマイシン類およびその製造法

技術分野

本発明はすぐれた抗菌活性を有する新規な抗生物質で
5 あるカプラザマイシン (caprazamycin) A、B、C、E
およびFまたはその製薬学的に許容される塩に関する。
また本発明はこれらカプラザマイシン類の製造法に関す
る。さらに本発明は、それらカプラザマイシン類あるい
はそれらの塩を有効成分とする医薬組成物、特に抗菌性
10 組成物に関する。さらにまた、本発明は、それらカプ
ラザマイシン類を生産できる特性を持つ新規な微生物とし
てストレプトミセス・エスピーMK730-62F2に関する。

背景技術

細菌感染症の化学療法、特に抗酸性菌の感染症の化学
15 療法においてリファンピシン、カナマイシン、ストレプ
トマイシン、バイオマイシン、カプレオマイシン、サイ
クロセリン等の抗生物質が抗菌剤として使用されている。

細菌感染症の化学療法において、感染症の原因となる
細菌が薬剤耐性になることは重大な問題である。特に抗
20 酸性菌の感染症の化学療法においてリファンピシン、カ
ナマイシン、ストレプトマイシン、バイオマイシン、カ
プレオマイシン、サイクロセリン等に耐性を有する抗酸
性菌が出現し社会的問題となっている。薬剤耐性抗酸性
菌の感染症に有効な新しい化学療法剤が強く望まれてい

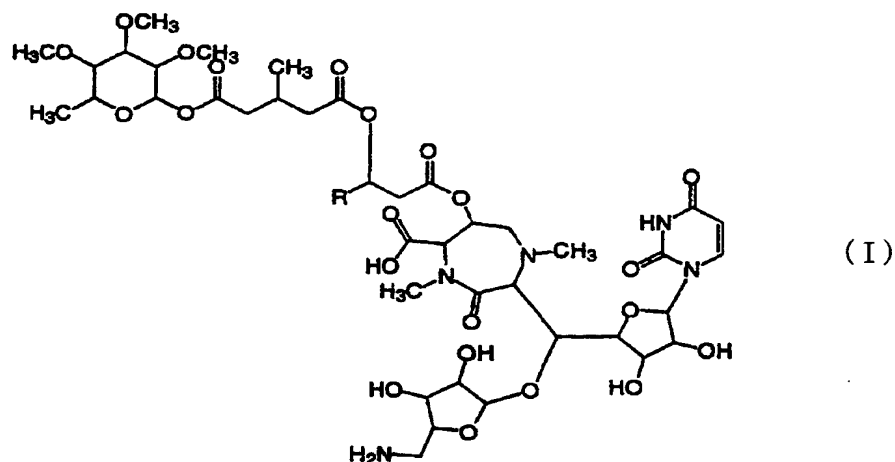
る。また、化学療法が確立していない非定型抗酸性菌の感染症に有効な新しい化学療法剤も強く望まれている。そのため、従来使用されている既知の抗生物質とは異なり、新規な化学構造を有し且つ優れた抗菌作用などの良い性質を示す新規化合物の発見または創製が強く望まれている。本発明は、上記の要望に応え得る優れた抗菌活性を持つ新規な抗生物質を提供することを目的とする。

発明の開示

本発明者らは有用な抗生物質を発見する目的で研究を行った。その結果、本発明者らによって分離されたストレプトミセス属に属する新しい菌株が新しい構造骨格を有する複数の抗生物質を産生することを見い出した。それらの一群の抗生物質を総括してカブラザマイシン類と称することにした。そしてカブラザマイシン類が各種の抗酸性菌、グラム陽性細菌およびそれらの薬剤耐性菌に強い抗菌活性を示すことを見い出した。さらに研究を続けて、カブラザマイシン類を分析することにより、今回得られたカブラザマイシン類には、5種の化合物が包括されていることを見出し、カブラザマイシンA、B、C、EおよびFとそれぞれ命名してそれらの化学構造を決定した。そしてカブラザマイシンA、B、C、EおよびFが新規化合物であることを確認し、そしてそれらを総括的に次の一般式(I)により表せることを知見した。なお、カブラザマイシン類は一般式(I)に示されるよう

に一つの共通な基本骨格を有するが、側鎖である R は相異なる炭素数 11～13 の直鎖のアルキル基、ないし分岐したアルキル基である。

従って、第 1 の本発明においては、次の一般式 (I)



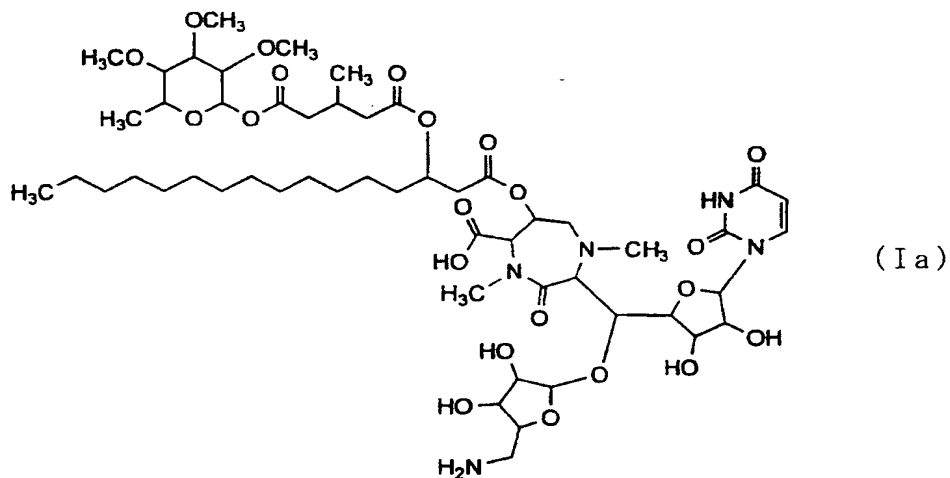
5

[式中、R はカブラザマイシン A ではトリデシル基であり、カブラザマイシン B では 11-メチルドデシル基であり、カブラザマイシン C ではドデシル基であり、カブラザマイシン E ではウンデシル基であり、そしてカブラザマイシン F では 9-メチルデシル基である] で示される化合物である、抗生物質カブラザマイシン A、カブラザマイシン B、カブラザマイシン C、カブラザマイシン E およびカブラザマイシン F、あるいはそれらの製薬学的に許容できる塩が提供される。

15 第 1 の本発明による新規な抗生物質カブラザマイシン類には、下記の式 (Ia) のカブラザマイシン A、式 (Ib) のカブラザマイシン B、式 (Ic) のカブラザマイシン C、

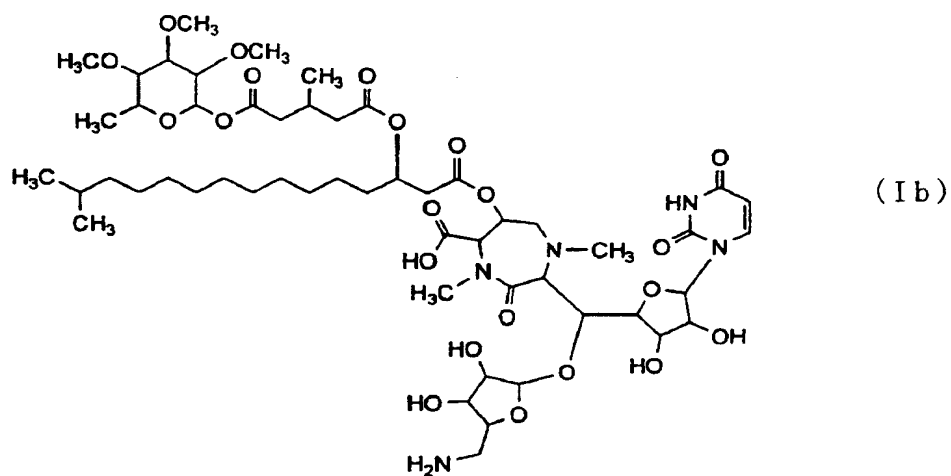
式 (Ie) のカブラザマイシン E および式 (If) のカブラザマイシン F が包含される。

(1) 次式 (Ia)



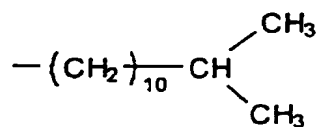
5 で示されるカプラザマイシン A [一般式 (I) で R がトリデシル基 $-(CH_2)_{12}-CH_3$ である場合の化合物]。

(2) 次式 (Ib)



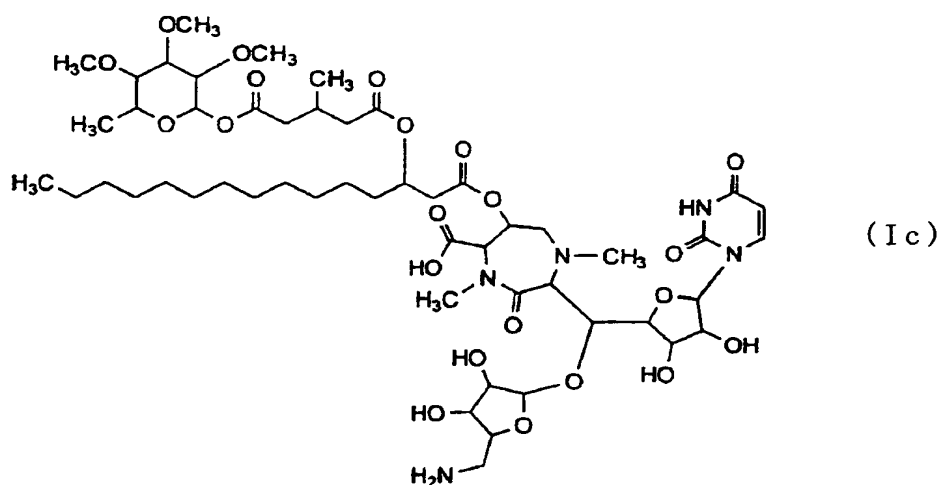
で示されるカブラザマイシン B [一般式 (I) で R が 11

10 ーメチルードデシル基



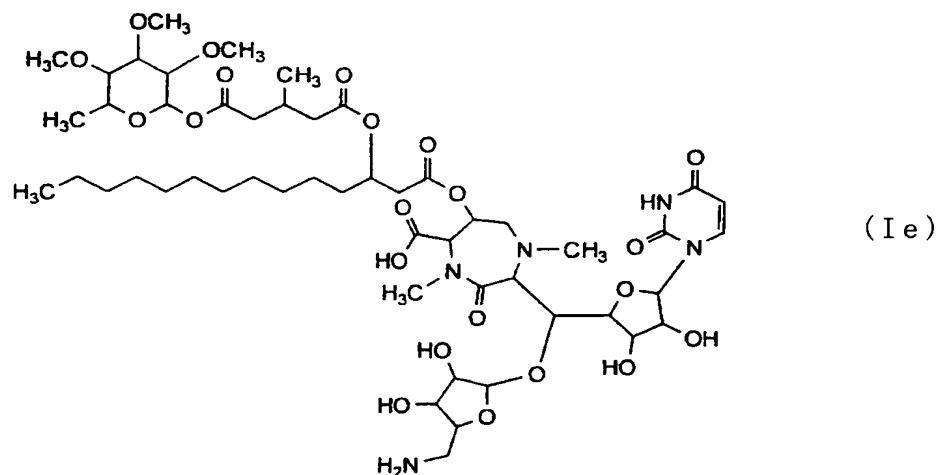
である場合の化合物】。

(3) 次式 (Ic)



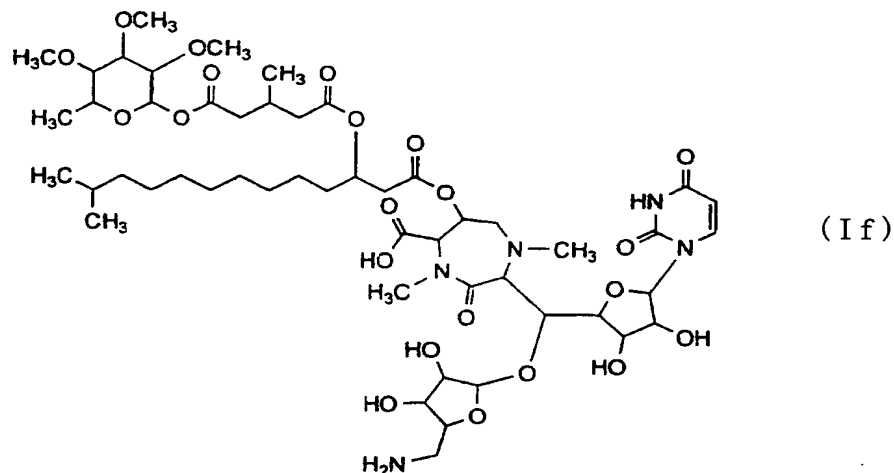
5 で示されるカプラザマイシン C [一般式 (I) で R がドデシル基 $-(\text{CH}_2)_{11}-\text{CH}_3$ である場合の化合物】。

(4) 次式 (Ie)

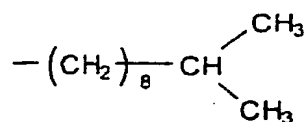


で示されるカブラザマイシン E [一般式 (I) で R がウンデシル基 $-(CH_2)_{10}-CH_3$ である場合の化合物]。

(5) 次式 (If)



5 示されるカブラザマイシン F [一般式 (I) で R が 9-メチル-デシル基



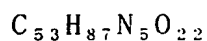
である場合の化合物]。

第 1 の本発明による式 (Ia) のカブラザマイシン A の
10 理化学的性状は、次の通りである。

(1) 外観

無色粉末

(2) 分子式



15 (3) 高分解能質量分析 (HRFABMS: 陽イオンモード)

実験値 : 1146.5933 (M+H)⁺

計算値 : 1146.5921

(4) 比旋光度

$[\alpha]_D^{23} -1.4^\circ$ (c 0.83, DMSO)

5 (5) 紫外線吸収スペクトル (メタノール中)

$\lambda_{\max} \text{ nm } (\epsilon) : 261 (7,400)$

添付図面の図 1 に示す。

(6) 赤外線吸収スペクトル

添付図面の図 2 に示す。

10 (7) プロトン核磁気共鳴スペクトル

500MHzにおいて重ジメチルスルホキシド中で室温にて測定したプロトンNMRスペクトル添付図面の図 3 に示す。

(8) 炭素13核磁気共鳴スペクトル

15 125MHzにおいて重ジメチルスルホキシド中で室温にて測定した炭素13NMRスペクトルは、添付図面の図 4 に示す。

(9) 溶解性

20 メタノール、ジメチルスルホキシド(DMSO)、水に可溶でありアセトン、酢酸エチルに不溶である。

(10) T L C

シリカゲル 60 F₂₅₄ (メルク社製) の薄層クロマトグラフィー上でブタノール : メタノール : 水 (4 : 1 : 2) の溶媒で展開したときのRf値は0.44で

ある。

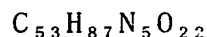
第 1 の本発明のカプラザマイシン A は両性物質であり、その製薬学的に許容できる塩としては、第 4 級アンモニウム塩などの有機塩基との塩、あるいは各種金属との塩、
5 例えばナトリウム塩のようなアルカリ金属との塩、あるいは酢酸などの有機酸との付加塩、あるいは塩酸のような無機酸との付加塩があげられる。

第 1 の本発明による式 (Ib) のカプラザマイシン B の理化学的性状は、次の通りである。

10 (1) 外観

無色粉末

(2) 分子式



(3) 高分解能質量分析 (HRFABMS : 陰イオンモード)

15 実験値 : 1144.5750 (M-H)⁻

計算値 : 1144.5764

(4) 比旋光度

$[\alpha]_D^{23} -2.6^\circ$ (c 0.91, DMSO)

(5) 紫外線吸収スペクトル (メタノール中)

20 $\lambda_{\text{max}} \text{ nm } (\epsilon) : 261 (8,000)$

添付図面の図 5 に示す。

(6) 赤外線吸収スペクトル

添付図面の図 6 に示す。

(7) プロトン核磁気共鳴スペクトル

500MHzにおいて重ジメチルスルホキシド：重水
(=10：1)の混合溶媒中で室温にて測定したプロ
トンNMRスペクトルは、添付図面の図7に示す。

(8) 炭素13核磁気共鳴スペクトル

5 125MHzにおいて重ジメチルスルホキシド：重水
(=10：1)の混合溶媒中で室温にて測定した炭素13
NMRスペクトルは、添付図面の図8に示す。

(9) 溶解性

メタノール、DMSO、水に可溶でありアセトン、
10 酢酸エチルに不溶である。

(10) TLC

シリカゲル60F₂₅₄(メルク社製)の薄層クロ
マトグラフィー上でブタノール：メタノール：水
(4：1：2)の溶媒で展開したときのR_f値は0.44で
15 ある。

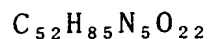
本発明のカブラザマイシンBは両性物質であり、その
製薬学的に許容できる塩としては、第4級アンモニウム
塩などの有機塩基との塩、あるいは各種金属との塩、例
えばナトリウム塩のようなアルカリ金属との塩、あるい
20 は酢酸などの有機酸との付加塩、あるいは塩酸のような
各種無機酸との付加塩があげられる。

本発明による式(Ic)のカブラザマイシンCの理化学
的性状は、次の通りである。

(1) 外観

無色粉末

(2) 分子式



(3) 高分解能質量分析 (HRFABMS: 陽イオンモード)

5 実験値 1132.5747 (M+H)⁺

計算値 1132.5764

(4) 比旋光度

$$[\alpha]_D^{25} -1.1^\circ \quad (c \quad 1.33, \text{DMSO})$$

(5) 紫外線吸収スペクトル (メタノール中)

10 $\lambda_{\text{max}} \quad \text{nm} \quad (\epsilon) : 261 \quad (8,300)$

添付図面の図 9 に示す。

(6) 赤外線吸収スペクトル

添付図面の図 10 に示す。

(7) プロトン核磁気共鳴スペクトル

15 500MHzにおいて重ジメチルスルホキシド中で室温にて測定したプロトンNMRスペクトルは、添付図面の図 11 に示す。

(8) 炭素13核磁気共鳴スペクトル

20 125MHzにおいて重ジメチルスルホキシド中で室温にて測定した炭素13NMRスペクトルは、添付図面の図12に示す。

(9) 溶解性

メタノール、DMSO、水に可溶でありアセトン、酢酸エチルに不溶である。

(10) T L C

シリカゲル 60 F₂₅₄ (メルク社製) の薄層クロマトグラフィー上でブタノール : メタノール : 水 (4 : 1 : 2) の溶媒で展開したときの Rf 値は 0.44 である。

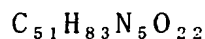
本発明のカプラザマイシン C は両性物質であり、その製薬学的に許容できる塩としては、第 4 級アンモニウム塩などの有機塩基との塩、あるいは各種金属との塩、例えばナトリウム塩のようなアルカリ金属との塩、あるいは酢酸などの有機酸との付加塩、あるいは塩酸のような各種無機酸との付加塩があげられる。

本発明による式 (Ie) のカプラザマイシン E の理化学的性状は、次の通りである。

(1) 外観

15 無色粉末

(2) 分子式



(3) 高分解能質量分析 (HRFABMS : 陽イオンモード)

実験値 1118.5613 (M+H)⁺

20 計算値 1118.5608

(4) 比旋光度

$[\alpha]_D^{25} -5.1^\circ$ (c 0.83, DMSO)

(5) 紫外線吸収スペクトル (メタノール中)

$\lambda_{max} \text{ nm } (\epsilon) : 262 (7,700)$

添付図面の図 1 3 に示す。

(6) 赤外線吸収スペクトル

添付図面の図 1 4 に示す。

(7) プロトン核磁気共鳴スペクトル

5 500MHzにおいて重ジメチルスルホキシド中で室温にて測定したプロトンNMRスペクトルは、添付図面の図 1 5 に示す。

(8) 炭素13核磁気共鳴スペクトル

10 125MHzにおいて重ジメチルスルホキシド中で室温にて測定した炭素13NMRスペクトルは、添付図面の図 16 に示す。

(9) 溶解性

メタノール、DMSO、水に可溶でありアセトン、酢酸エチルに不溶である。

15 (10) T L C

シリカゲル 6 0 F ₂₅₄ (メルク社製) の薄層クロマトグラフィー上でブタノール：メタノール：水 (4 : 1 : 2) の溶媒で展開したときのRf値は0.44である。

20 本発明のカブラザマイシンEは両性物質であり、その製薬学的に許容できる塩としては、第4級アンモニウム塩などの有機塩基との塩、あるいは各種金属との塩、例えばナトリウム塩のようなアルカリ金属との塩、あるいは酢酸などの有機酸との付加塩、あるいは塩酸のような

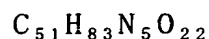
各種無機酸との付加塩があげられる。

本発明による式 (If) のカプラザマイシン F の理化学的性状は、次の通りである。

(1) 外観

5 無色粉末

(2) 分子式



(3) 高分解能質量分析 (HRFABMS: 陽イオンモード)

実験値 1118.5615 (M+H)⁺

10 計算値 1118.5608

(4) 比旋光度

$[\alpha]_D^{25} -4.7^\circ$ (c 0.90、DMSO)

(5) 紫外線吸収スペクトル (メタノール中)

$\lambda_{\text{max}} \text{ nm } (\epsilon): 262 (7,600)$

15 添付図面の図17に示す。

(6) 赤外線吸収スペクトル

添付図面の図18に示す。

(7) プロトン核磁気共鳴スペクトル

500MHzにおいて重ジメチルスルホキシド中で室温にて測定したプロトンNMRスペクトルは、添付図面の図19に示す。

20

(8) 炭素13核磁気共鳴スペクトル

125MHzにおいて重ジメチルスルホキシド中で室温にて測定した炭素13NMRスペクトルは、添付図面

の図20に示す。

(9) 溶解性

メタノール、DMSO、水に可溶でありアセトン、酢酸エチルに不溶である。

5 (10) T L C

シリカゲル 60 F₂₅₄ (メルク社製) の薄層クロマトグラフィー上でブタノール：メタノール：水 (4：1：2) の溶媒で展開したときのRf値は0.44である。

- 10 本発明のカブラザマイシンFは両性物質であり、その製薬学的に許容できる塩としては、第4級アンモニウム塩などの有機塩基との塩、あるいは各種金属との塩、例えばナトリウム塩のようなアルカリ金属との塩、あるいは酢酸などの有機酸との付加塩、あるいは塩酸のような
- 15 各種無機酸との付加塩があげられる。

- なお、本明細書では、カブラザマイシンA、カブラザマイシンB、カブラザマイシンC、カブラザマイシンE、カブラザマイシンFのうちの一つ、あるいは二つまたはそれ以上の混合物、もしくは、すべての混合物を、単に
- 20 カブラザマイシン類と称することがある。

本発明による前記の一般式(I)で表せるカブラザマイシン類は後記の生物学的性質を有する。

すなわち、カブラザマイシンA、カブラザマイシンB、カブラザマイシンC、カブラザマイシンEおよびカブラ

ザマイシン F は、薬剤耐性菌を含む抗酸性菌および薬剤耐性菌（メチシリン耐性菌等）を含むグラム陽性の細菌に対して抗菌活性を示す。これらの細菌に対するカブラザマイシン類の抗菌活性を次のとおり試験した。

5 試験例 1

各種の微生物に対するカブラザマイシン A の抗菌スペクトルは日本化学療法学会標準法に基づき、1%グリセリン加普通寒天培地上で倍数希釈法により測定した。その結果を表 1 に示す。

表 1

供 試 菌	カブラザマイシン A 最小発育阻止濃度 (μ g/ml)
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607	1.56
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 PM-R (パロモマイシン耐性)	1.56
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 VM-R (バイオマイシン耐性)	0.78
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 CPM-R (カブレオマイシン耐性)	0.78
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 ST-R (ストレプトスライシン耐性)	0.78
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 KM-R (カナマイシン耐性)	0.78
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 SM-R (ストレプトマイシン耐性)	1.56
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 RFP-R (リファンピシン耐性)	0.78
マイコバクテリウム・フレイ	1.56
マイコバクテリウム・バケ ATCC15483	0.2
マイコバクテリウム・フォーツイツム	6.25

試験例 2

各種の微生物に対するカブラザマイシン B の抗菌スペクトルは日本化学療法学会標準法に基づき、1%グリセリン加普通寒天培地上で倍数希釈法により測定した。その結果を表 2 に示す。

表 2

供 試 菌	カプラザマイシン B 最小発育阻止濃度 (μ g/ml)
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607	3.13
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 PM-R (パロモマイシン耐性)	1.56
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 VM-R (バイオマイシン耐性)	1.56
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 CPM-R (カブレオマイシン耐性)	1.56
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 ST-R (ストレプトスライシン耐性)	1.56
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 KM-R (カナマイシン耐性)	1.56
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 SM-R (ストレプトマイシン耐性)	3.13
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 RFP-R (リファンピシン耐性)	3.13
マイコバクテリウム・フレイ	3.13
マイコバクテリウム・バケ ATCC15483	0.39
マイコバクテリウム・フォーツイツム	50

試験例 3

表 2 に示されたもの以外の各種の微生物に対するカプ
5 ラザマイシン B の抗菌スペクトルを、日本化学療法学会
標準法に基づき、ミュラ・ヒントン寒天培地上で倍数希
釈法により測定した。その結果を表 3 に示す。

表 3

供 試 菌	カ プ ラ ザ マ イ シ ン B 最 小 発 育 阻 止 濃 度 (μ g/ml)
スタフィロコッカス・アウレウス FDA209P	1.56
スタフィロコッカス・アウレウス スミス	3.13
スタフィロコッカス・アウレウス MS9610 (多剤耐性)	3.13
スタフィロコッカス・アウレウス No.5 (メチシリン 耐性)	3.13
スタフィロコッカス・アウレウス No.17 (メチシリン 耐性)	6.25
スタフィロコッカス・アウレウス MS16526 (メチシリン 耐性)	3.13
スタフィロコッカス・アウレウス TY-04282 (メチシリン 耐性)	6.25
マイクロコッカス・ルテウス FDA16	3.13
マイクロコッカス・ルテウス PCI1001	3.13
バチルス・アントラシス	0.78
バチルス・ズブチリス NRRL B-558	12.5
バチルス・ズブチリス PCI219	6.25
バチルス・セレウス ATCC10702	3.13
コリネバクテリウム・ボビス 1810	3.13
エシエリヒア・コリ NIHJ	100

試験例 4

各種の微生物に対するカブラザマイシン C の抗菌スペ

クトルは日本化学療法学会標準法に基づき、1%グリセリン加普通寒天培地上で倍数希釈法により測定した。その結果を表4に示す。

表 4

供 試 菌	カプラザマイシンC 最小発育阻止濃度 (μ g/ml)
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607	1.56
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 PM-R (パロモマイシン耐性)	1.56
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 VM-R (バイオマイシン耐性)	1.56
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 CPM-R (カブレオマイシン耐性)	1.56
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 ST-R (ストレプトスライシン耐性)	1.56
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 KM-R (カナマイシン耐性)	0.78
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 SM-R (ストレプトマイシン耐性)	1.56
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 RFP-R (リファンピシン耐性)	1.56
マイコバクテリウム・フレイ	1.56
マイコバクテリウム・バケ ATCC15483	0.39
マイコバクテリウム・フォーツイツム	12.5

試験例 5

各種の微生物に対するカプラザマイシンEの抗菌スペクトルは日本化学療法学会標準法に基づき、1%グリセ

リン加普通寒天培地上で倍数希釈法により測定した。その結果を表5に示す。

表 5

供 試 菌	カブラザマイシン E 最小発育阻止濃度 (μ g/ml)
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607	1.56
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 PM-R (パロモマイシン耐性)	1.56
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 VM-R (バイオマイシン耐性)	0.39
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 CPM-R (カブレオマイシン耐性)	0.39
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 ST-R (ストレプトスライシン耐性)	0.78
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 KM-R (カナマイシン耐性)	0.78
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 SM-R (ストレプトマイシン耐性)	1.56
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 RFP-R (リファンピシン耐性)	0.78
マイコバクテリウム・フレイ	1.56
マイコバクテリウム・バケ ATCC15483	0.39
マイコバクテリウム・フォーツイツム	12.5

5 試験例 6

各種の微生物に対するカブラザマイシン F の抗菌スペクトルは日本化学療法学会標準法に基づき、1%グリセリン加普通寒天培地上で倍数希釈法によって測定した。

その結果を表6に示す。

表 6

供 試 菌	カプラザマイシン F 最小発育阻止濃度 (μ g/ml)
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607	1.56
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 PM-R (パロモマイシン耐性)	0.78
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 PM-R (バイオマイシン耐性)	1.56
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 PM-R (カブレオマイシン耐性)	0.78
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 ST-R (ストレプトスライシン耐性)	0.78
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 KM-R (カナマイシン耐性)	0.78
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 SM-R (ストレプトマイシン耐性)	1.56
マイコバクテリウム・スメグマティス ATCC607 RFP-R (リファンピシン耐性)	0.78
マイコバクテリウム・フレイ	1.56
マイコバクテリウム・バケ ATCC15483	0.78
マイコバクテリウム・フォーツイツム	12.5

試験例 7

- 5 結核菌 (Mycobacterium tuberculosis)、ならびに非定型抗酸性菌であるマイコバクテリウム・アビウム・キ

ルヒベルグ (Mycobacterium avium kirchberg) およびマイコバクテリウム・イントラセルラレ (Mycobacterium intracellulare) に対するカブラザマイシン A、B、C、E および F の抗菌スペクトルを、Middlebrook 7H9 液体培地中で倍数希釈法により測定した。また、前記の細菌に対するリファンピシン (RFP) およびイソニコチン酸ヒドラジド (INH) (比較薬剤として) の抗菌スペクトルを、同じ倍数希釈法により測定した。得られた結果を次の表 7 に示す。

10 表 7

供試化合物	下記の供試菌に対する供試化合物の最小発育阻止濃度 (μ g/ml)		
	結核菌 H37Rv NIHJ-1633	マイコバクテリウム・アビウム・ キルヒベルグ NIHJ-1605	マイコバクテリウム・ イントラセルラレ E-1 NIHJ-1618
カブラザマイシン A	1.56	<0.025	0.78
カブラザマイシン B	1.56	<0.025	0.78
カブラザマイシン C	0.78	<0.025	0.78
カブラザマイシン E	0.78	<0.025	0.78
カブラザマイシン F	1.56	0.1	1.56
RFP (比較薬剤)	0.1	0.78	0.2
INH (比較薬剤)	0.05	25	0.78

さらに、第 2 の本発明によると、ストレプトミセス属に属して、前記の一般式 (I) で表されるカブラザマイシ

ン A、カブラザマイシン B、カブラザマイシン C、カブラザマイシン E およびカブラザマイシン F の少くとも一つを生産する生産菌を培養し、その培養物から、カブラザマイシン A、B、C、E および F の少くとも一つを採取することを特徴とする、一般式 (I) で表される抗生物質カブラザマイシン A、B、C、E および (または) F の製造方法が提供される。

第 2 の本発明の方法で使用する抗生物質カブラザマイシン類の生産菌は、前述した理化学的性質および生物学的性質を有する抗生物質を生産する能力を有するものであれば、その種を問わず使用できて、広範な微生物から選ぶことができる。かかる微生物のうち、抗生物質カブラザマイシン類の生産菌の具体的な好適の一例には、本発明者らにより平成 9 年 3 月、微生物化学研究所において、ハワイ、オアフ島の土壌より分離された放線菌で、MK730-62F2 の菌株番号が付された菌株がある。

以下に MK730-62F2 株の菌学的諸性質について記載する。

1. 形態

MK730-62F2 株は、分枝した基生菌糸より、比較的長い菌糸を伸長し、その先端に 5-10 回転のらせんを形成する。成熟した孢子鎖は 10-50 個の卵円形の孢子を連鎖し、孢子の大きさは約 $0.5 \sim 0.6 \times 0.8 \sim 1.0$ ミクロンである。なお、孢子の表面は平滑である。輪生枝、菌束糸、孢子のう、および運動性孢子は認められない。

2. 各種培地における生育状態

色の記載について [] 内に示す色の標準は、コンテナ・コーポレーション・オブ・アメリカのカラー・ハーモニー・マニュアル (Container Corporation of Americaのcolor harmony manual) を用いた。

(1) スクロース・硝酸塩寒天培地 (27℃培養)

うす黄 [2 ea, Lt Wheat] の発育上に、白の気菌糸を、うっすらと着生し、溶解性色素は認められない。

(2) グリセリン・アスパラギン寒天培地 (ISP-培地5、27℃培養)

うす黄 [2 ea, Lt Wheat] ~ うす黄茶 [2 ng, Dull Gold] の発育上に、灰白 [3 dc, Natural] ~ 明るい灰 [d] の気菌糸を着生する。溶解性色素は認められない。

(3) スターチ・無機塩寒天培地 (ISP-培地4、27℃培養)

うす黄 [2 ea, Lt Wheat] ~ うす黄茶 [2 lg, Mustard Tan] の発育上に、白 ~ 明るい灰 [d] の気菌糸を着生する。溶解性色素は認められない。

(4) チロシン寒天培地 (ISP-培地7、27℃培養)

うす黄茶 [2 le, Mustard ~ 2 ng, Dull Gold] の発育上に、灰白 [b, Oyster White ~ 3 dc, Natural] の気菌糸を着生し、暗い茶の溶解性色素を産生する。

(5) イースト・麦芽寒天培地 (ISP-培地2、27℃培養)

うす黄茶 [2 ie, Lt Mustard Tan ~ 3 ic, Lt Amber] の発育上に、灰白 [b, Oyster White] ~ 明るい灰 [d]

の気菌糸を着生する。溶解性色素は認められない。

(6) オートミール寒天培地 (ISP-培地3、27℃培養)

うす黄 [2 ea, Lt Wheat] の発育上に、灰白 [3 dc, Natural] ~ 明るい灰 [d] の気菌糸を着生し、溶解性色素は認められない。

3. 生理学的性質

(1) 生育温度範囲

グルコース・アスパラギン寒天培地 (グルコース 1.0%、アスパラギン 0.05%、リン酸二カリウム 0.05%、ひも寒天 2.5%、pH 7.0) を用い、10℃、20℃、24℃、27℃、30℃、37℃、45℃および50℃の各温度で試験した結果、本菌株は10℃、45℃および50℃を除き、20℃から37℃の範囲で生育した。生育至適温度は、30~37℃付近である。

(2) スターチの加水分解 (スターチ・無機塩寒天培地、ISP-培地4、27℃培養)

培養後3日目頃よりスターチの加水分解を認め、その作用は中等度である。

(3) メラニン様色素の生成 (トリプトン・イースト・ブロス、ISP-培地1; ペプトン・イースト・鉄寒天培地、ISP-培地6; チロシン寒天培地、ISP-培地7; いずれも27℃培養)

いずれの培地でも陽性である。

(4) 炭素源の利用性 (プリドハム・ゴトリーブ寒天培地、

ISP-培地 9、27℃ 培養)

D-グルコース、L-アラビノース、D-フルクトース、スクロース、イノシトール、ラムノース、ラフィノースおよびD-マンニトールを利用して発育し、D-キシロースもおそらく利用する。

(5) 硝酸塩の還元反応 (0.1% 硝酸カリウム含有ペプトン水、ISP-培地 8、27℃ 培養)

陰性である。

(6) ゼラチンの液化 (単純ゼラチン、20℃ 培養; グルコース・ペプトン・ゼラチン、27℃ 培養)

単純ゼラチンは、培養後 40 日間の観察で液化を認めなかった。グルコース・ペプトン・ゼラチンの場合、培養後 40 日頃に弱い液化を示した。

(7) 脱脂牛乳の凝固・ペプトン化 (10% スキムミルク、37℃ 培養)

凝固することなく、培養後 7 日目頃よりペプトン化が始まり、14 日目には完了した。

以上の性状を要約すると、MK730-62F2 株は、分枝した基生菌糸より、らせん形成を有する気菌糸を伸長する。胞子の表面は平滑である。種々の培地で、うす黄～うす黄茶の発育上に、灰白～明るい灰の気菌糸を着生する。溶解性色素は、メラニン様色素以外は認められない。生育至適温度は 30～37℃ 付近である。メラニン様色素の生成は陽性、スターチの水解性は中等度である。なお、細

胞壁に含まれる 2,6-ジアミノピメリン酸は LL-型であり、菌体中の主要なメナキノンは MK-9(H8) および MK-9(H6) であった。

これらの性状より MK730-62F2株は、ストレプトミセス
5 (Streptomyces) 属に属すると考えられる。そこで、近縁の既知菌種を検索した結果、ストレプトミセス・ディアスタトクロモゲネス(Streptomyces diastatochromogenes、文献、International Journal of Systematic Bacteriology、22巻、290頁、1972年)、ストレプトミセス・レジストマイシフィクス(Streptomyces resistomycificus、文献、International Journal of Systematic Bacteriology、18巻、165頁、1968年)、ストレプトミセス・コリヌス(Streptomyces collinus、文献、International Journal of Systematic Bacteriology、18巻、100頁、1
15 968年) およびストレプトミセス・アウランティオグリセウス(Streptomyces aurantiogriseus、文献、International Journal of Systematic Bacteriology、18巻、297頁、1968年) があげられた。次に上記4種の本研究所保存菌株と MK730-62F2株を実地に比較検討した。その成績を表 8 に示す。
20

表 8

	MK730-62F2株	ストレプトミセス・ ディアスタクロモ ゲネス IMC S-0712 (ISP 5449)	ストレプトミセス・ レジストマイシフィ クス IMC S-0212 (ISP 5133)
気菌糸の形態	らせん	波状～らせん	らせん
胞子の表面	平滑	平滑	平滑
気菌糸の色	灰白～明るい灰	明るい灰	白～灰
発育の色	うす黄～うす黄茶	うす黄～うす黄茶	うす黄茶～茶黒
溶解性色素	－	－	－～茶を帯びる
メラニン様色素の生成			
ISP 1	(+)	+	+
ISP 6	+	+	+
ISP 7	(+)	+	(+)
硝酸塩の還元	－	－	－
スターチの加水分解	+	+	+
脱脂牛乳の凝固	－	－	－
脱脂牛乳のペプトン化	+	(+)	－
単純ゼラチンの液化	－	(+)	－
グルコース・ペプト ン・ゼラチンの液化	(+)	(+)	(+)
炭素源の利用性*			
L- アラビノース	+	+	+
D- キシロース	(+)	+	(+)
D- グルコース	+	+	+
D- フラクトース	+	+	+
スクロース	+	+	+
イノシトール	+	+	+
ラムノース	+	+	+
ラフィノース	+	+	+
D- マンニトール	+	+	+

* + : 利用、(+) : おそらく利用、± : 利用の存否が判然としない。

表 8 続

	MK730-62F2株	ストレプトミセス・ コリヌス IMC S-0201 (ISP 5129)	ストレプトミセス・ アウランティオグリ セウス IMC S-0069 (ISP 5138)
気菌糸の形態	らせん	直状～ループ状	らせん
胞子の表面	平滑	平滑	平滑
気菌糸の色	灰白～明るい灰	白～灰白	白～灰
発育の色	うす黄～うす黄茶	うす黄茶～明るい茶	うす黄茶～明るい茶
溶解性色素	－	－	－～茶を帯びる
メラニン様色素の生成			
ISP 1	(+)	(+)	+
ISP 6	+	+	+
ISP 7	(+)	(+)	(+)
硝酸塩の還元	－	－	+
スターチの加水分解	+	+	+
脱脂牛乳の凝固	－	－	－
脱脂牛乳のペプトン化	+	－	+
単純ゼラチンの液化	－	－	(+)
グルコース・ペプトン・ゼラチンの液化	(+)	(+)	(+)
炭素源の利用性*			
L- アラビノース	+	+	+
D- キシロース	(+)	(+)	(+)
D- グルコース	+	+	+
D- フラクトース	+	+	+
スクロース	+	+	(+)
イノシトール	+	+	(+)
ラムノース	+	(+)	+
ラフィノース	+	+	+
D- マンニトール	+	+	+

* + : 利用、(+) : おそらく利用、± : 利用の存否が判然としない。

以上の表 8 から明らかなように、MK730-62F2株は表 8
で比較されたいずれの種とも類似した性状を示した。し
かし、ストレプトミセス・レジストマイシフィクスは発
育の色調がうす黄茶ー茶黒を呈し、溶解性色素が茶を帯
び、脱脂牛乳をペプトン化しない点で、MK730-62F2株と
相違していた。また、ストレプトミセス・コリヌスは気
菌糸の形態が直状ーループ状を示し、脱脂牛乳をペプト
ン化しない点で、またストレプトミセス・アウランティ
オグリセウスは溶解性色素が茶を帯び、単純ゼラチンを
液化し、硝酸塩を還元する点で、MK730-62F2株と区別さ
れた。一方、ストレプトミセス・ディアスタクロモゲ
ネスは単純ゼラチンの液化が陽性を示すほかは、MK730-
62F2株とよく類似していた。しかし、現時点ではMK730-
62F2株をストレプトミセス・ディアスタクロモゲネス
の一菌株であると同定できない。そこで、MK730-62F2株
をストレプトミセス・エスピー (Streptomyces sp.) MK
730-62F2とした。

なお、MK730-62F2株を日本国茨城県つくば市東 1 丁目
1 番 3 号に在る工業技術院生命工学工業技術研究所に寄
託申請し、1998年11月27日、FERM P-17067として受託さ
れた。また、2000年7月12日の受託日でブダペスト条約
の規約下にMK730-62F2株はFERM BP-7218の受託番号で前
記の研究所に寄託された。

第 2 の本発明の方法においては、抗生物質カブラザマ

イシン類の製造は次の通り行われる。

すなわち、抗生物質カブラザマイシン類の製造は、抗生物質カブラザマイシンA、B、C、EおよびFの少なくとも一つを生産する生産菌（単にカブラザマイシン生産菌という）を栄養培地中に接種し、抗生物質カブラザマイシン類の生産に良好な温度で培養することによって行われ、抗生物質カブラザマイシン類を含む培養物が得られる。このような目的に用いる栄養培地としては、放線菌の培養に利用しうるものが使用される。栄養源として、例えば市販されている大豆粉、ペプトン、酵母エキス、肉エキス、コーン・ステープ・リカー、硫酸アンモニウム等の窒素源が使用できる。また、トマトペースト、グリセリン、でん粉、グルコース、ガラクトース、デキストリン等の炭水化物あるいは脂肪などの炭素源が使用できる。さらに食塩、炭酸カルシウム等の無機塩を添加して使用できる。その他必要に応じて微量の金属塩を添加することができる。これらのものは、カブラザマイシン生産菌が利用し、抗生物質カブラザマイシン類の生産に役に立つものであればよく、公知の放線菌の培養材料はすべて用いることができる。

抗生物質カブラザマイシン類の生産は、ストレプトミセス属に属する抗生物質カブラザマイシン類の生産能を有する微生物が使用される。具体的には、本発明者らの分離したストレプトミセス・エスピーMK730-62F2が抗生

- 物質カブラザマイシン類を生産することは、本発明者らによって明らかにされているが、その他の菌株については、抗生物質生産菌の単離の常法によって自然界より分離することが可能である。また、ストレプトミセス・エ
- 5 スピー MK730-62F2を含めて、カブラザマイシン生産菌を放射線照射その他、変異処理により抗生物質カブラザマイシン類の生産能を高める余地も残っている。さらに遺伝子工学的手法によって抗生物質カブラザマイシン類の生産も可能である。
- 10 カブラザマイシン類の生産のための種母培地としては、寒天培地上、MK730-62F2株の斜面培養から得た生育物を使用する。
- 抗生物質カブラザマイシン類の製造に当たっては、ストレプトミセス属に属するカブラザマイシン生産菌を適
- 15 当な培地で好氣的に培養するのが好ましく、その培養液から目的のカブラザマイシンを採取するのには常用の手段を用いることができる。培養温度は、カブラザマイシン生産菌の発育が実質的に阻害されずにこれらの抗生物質を生産しうる範囲であれば、特に制約されるものでない。
- 20 い。培養温度は、使用するカブラザマイシン生産菌に応じて適当に選択できるが、好ましくは、25～30℃の範囲内の温度を挙げることができる。

この MK730-62F2 株によるカブラザマイシン類の生産は、通常は 3 ないし 9 日間で最高に達するが、一般に充

分な抗菌活性が培地に付与されるまで続ける。この培養液中のカブラザマイシン類の力価の経時変化は、HPLC法またはマイコバクテリウム・スメグマティスあるいはマイコバクテリウム・バケを被検菌とする円筒平板法により測定できる。

第2の本発明の方法においては、上記のようにして得られた培養物からカブラザマイシンA、B、C、EおよびFの少くとも一つを採取するが、採取法としては微生物の生産する代謝物を採取するのに用いられる手段を適宜利用することができる。例えば、水と混ざらない有機溶媒による抽出の手段、各種吸着剤に対する吸着親和性の差を利用する手段、ゲルろ過、向流分配を利用したクロマトグラフィー等を単独または組み合わせて利用しカブラザマイシンA、B、C、EおよびFをそれぞれ単独にまたは何れかの混合物として採取できる。また、分離した菌体からは、適当な有機溶媒を用いた溶媒抽出法や菌体破碎による溶出法によりカブラザマイシンを抽出し、上記と同様にカブラザマイシンA、B、C、EおよびFを単離して採取することができる。かくして、前記した抗生物質カブラザマイシンA、B、C、EおよびFが別々にまたは混合物として得られる。なおカブラザマイシンA、B、C、EおよびFの相互の分離は、後記の実施例で例示されるように、適当な展開溶媒を用いる高速液体クロマトグラフィー（HPLC）によって行うことがで

きる。

さらに、第 3 の本発明では、一般式 (I) で示される
カプラザマイシン A、B、C、E および F の少なくとも
一つ、またはその塩を有効成分として含有し、また製
5 薬学的に許容される担体を、有効成分と混和して含有す
る医薬組成物が提供される。

第 3 の本発明による医薬組成物においては、有効成分
としての一般式 (I) の化合物を、製薬学的に許容でき
る常用の固体または液状担体、例えばエタノール、水、
10 生理食塩水、でん粉等と混和して含有する組成物の形で
あることができる。

第 3 の本発明の医薬組成物で用いる有効成分である一
般式 (I) のカプラザマイシンまたはその塩は、経口的
に投与でき、あるいは静脈内または筋肉内注射もしくは
15 腹腔内投与などにより非経口的にも投与することができ
る。

経口投与用の場合には、第 3 の本発明の医薬組成物で
は、有効成分としての一般式 (I) のカプラザマイシン
またはその塩を薬学的に許容できる慣用の固体または液
20 体状の担体と混和して、その混合物を散剤、錠剤、カプ
セル剤、懸濁剤、シロップ剤等の形で製剤とすることが
できる。

第 3 の本発明の医薬組成物における有効成分としての
一般式 (I) の化合物の含量割合は、剤形によって異なる

が、例えば、好都合な含量割合は投与単位物の重量の約2～90%の範囲にあるのがよい。

第3の本発明の組成物を注射用に製剤する場合には、望ましい製剤形態としては、有効成分としての前記の化合物を含む無菌の水溶液あるいは無菌の凍結乾燥剤がある。ここに用いる液体担体としては例えば水、含水エタノール、グリセロール、プロピレングリコール、植物油などが好ましい。

本発明の組成物において有効成分として用いられる一般式(I)のカブラザマイシンまたはその塩の投与量は、治療すべき細菌感染症の種類、治療の目的および症状の程度などによって異なるが、最適な投与量は専門家による適当な予備試験で決定できる。なお、カブラザマイシンBは、マウス(ICR系、4週令、雌)に対して静脈注射時に75mg/kgの投与量で毒性を示さなかった。

また、第4の本発明では、前記の一般式(I)のカブラザマイシンA、B、C、EおよびFを生産する特性を持ち且つ工業技術院生命工学工業技術研究所にFERM BP-7218の受託番号で寄託されたストレプトミセス・エスピーMK730-62F2株が新規な微生物として提供される。

図面の簡単な説明

図1はカブラザマイシンAのメタノール溶液中の紫外線吸収スペクトルである。

図2はカブラザマイシンAのKBr錠剤法で測定した

赤外線吸収スペクトルである。

図 3 はカブラザマイシン A の重ジメチルスルホキシド溶液中にて室温で測定した 500MHz におけるプロトン核磁気共鳴スペクトルである。

- 5 図 4 はカブラザマイシン A の重ジメチルスルホキシド溶液中にて室温で測定した 125MHz における炭素 13 核磁気共鳴スペクトルである。

図 5 はカブラザマイシン B のメタノール溶液中の紫外線吸収スペクトルである。

- 10 図 6 はカブラザマイシン B の K B r 錠剤法で測定した赤外線吸収スペクトルである。

図 7 はカブラザマイシン B の重ジメチルスルホキシド：重水 (=10：1) の混合溶媒中にて室温で測定した 500 MHz におけるプロトン核磁気共鳴スペクトルである。

- 15 図 8 はカブラザマイシン B の重ジメチルスルホキシド：重水 (=10：1) の混合溶媒中にて室温で測定した 125 MHz における炭素 13 核磁気共鳴スペクトルである。

図 9 はカブラザマイシン C のメタノール溶液中の紫外線吸収スペクトルである。

- 20 図 10 はカブラザマイシン C の K B r 錠剤法で測定した赤外線吸収スペクトルである。

図 11 はカブラザマイシン C の重ジメチルスルホキシド溶液中にて室温で測定した 500MHz におけるプロトン核磁気共鳴スペクトルである。

図 12はカブラザマイシン C の重ジメチルスルホキシド溶液中にて室温で測定した 125MHzにおける炭素 13核磁気共鳴スペクトルである。

図 13はカブラザマイシン E のメタノール溶液中の紫外
5 線吸収スペクトルである。

図 14はカブラザマイシン E の K B r 錠剤法で測定した赤外線吸収スペクトルである。

図 15はカブラザマイシン E の重ジメチルスルホキシド溶液中にて室温で測定した 500MHzにおけるプロトン核磁
10 気共鳴スペクトルである。

図 16はカブラザマイシン E の重ジメチルスルホキシド溶液中にて室温で測定した 125MHzにおける炭素 13核磁気共鳴スペクトルである。

図 17はカブラザマイシン F のメタノール溶液中の紫外
15 線吸収スペクトルである。

図 18はカブラザマイシン F の K B r 錠剤法で測定した赤外線吸収スペクトルである。

図 19はカブラザマイシン F の重ジメチルスルホキシド溶液中にて室温で測定した 500MHzにおけるプロトン核磁
20 気共鳴スペクトルである。

図 20はカブラザマイシン F の重ジメチルスルホキシド溶液中にて室温で測定した 125MHzにおける炭素 13核磁気共鳴スペクトルである。

発明を実施するための最良の方法

以下に実施例により本発明をさらに詳細に説明する。

実施例 1

抗生物質カプラザマイシン A、B、C、E および F の製造

- 5 寒天斜面培地に培養したストレプトミセス・エスピー MK730-62F2 (受託番号 FERM BP-7218 で寄託) を、ガラクトース 2%、デキストリン 2%、グリセリン 1%、バクトソイトン (ディフコ社製) 1%、コーン・スティーブ・リカー 0.5%、硫酸アンモニウム 0.2%、炭酸カルシウム 0.2 % を含む液体培地 (pH 7.4 に調整) を三角フラスコ (500ml 容) に 110ml ずつ分注して常法により 120 °C で 20 分滅菌した培地に接種した。その後 30°C で 2 日間
- 10 にわたり回転振とう培養し、種母培養液を得た。

- トマトペースト (カゴメ社製) 2.4%、デキストリン 2.4%、酵母エキス (オリエンタル社製) 1.2%、塩化コバルト 0.0006% (pH 7.4 に調整) の組成の培地 15 リットルをタンク培養槽 (30 リットル 容) 中に調製し、滅菌後に生産培地として用いた。この生産培地に、上記の種母培養液の 2 % 量を接種し、27°C、1 分間あたり通気量 1
- 15 5 リットル、200rpm の攪拌速度を用いる培養条件で 6 日間
- 20 タンク培養した。

このようにして得られた培養液を遠心分離して培養ろ液 12 リットルと菌体を分離した。つづいて、菌体に 6 リットルのメタノールを加えてよく攪拌し、菌体からカプ

ラザマイシン類をメタノールで抽出した。培養ろ液と菌体抽出液（メタノール抽出液）を合わせて、得られた混合液18リットルを芳香族系合成吸着剤ダイヤイオンHP-20（日本、三菱化学株式会社製）のカラム750 mlに通過させ、カプラザマイシン類を吸着させた。このダイヤイオンHP-20に脱イオン水、50 %メタノール水、80%メタノール水、80 %アセトン水、アセトン を各2.25 リットル順次通過させた。カプラザマイシン類は、80 %アセトン水での溶出画分中に多く溶出された。また、50%メタノール水溶出画分および80%メタノール水溶出画分にもカプラザマイシン類が含まれていたもので、両者を合わせて再度、ダイヤイオンHP-20カラム（750 ml）に通過させ、これによりカプラザマイシン類をカラムの吸着剤に吸着させ、次いでカラムに80%メタノール水2.25リットルを通過させた。その後、カラムから80%アセトン水2.25リットルで溶出させた。この80%アセトン水での溶出液を先の80%アセトン水溶出画分に合わせ、減圧下で濃縮乾固してカプラザマイシン類を含む粗精製物10.1 gを得た。

このカプラザマイシン類を含む粗精製物の10.1 gをクロロホルム-メタノール (=1:2) の混合溶媒の50mlに溶解して、その溶液にキーゼルグール（メルク社製、Art. 10601）50mlを加え溶媒を減圧下で濃縮乾固した。このようにカプラザマイシン類をキーゼルグールに吸着させたものを、シリカゲルカラム（内径54 mm×長さ200 mm）の

上にのせ、クロマトグラフィーを行った。この際には、展開溶媒としてクロロホルム-メタノール-水 (= 4 : 1 : 0.1)、クロロホルム-メタノール-水 (= 2 : 1 : 0.2)、クロロホルム-メタノール-水 (= 1 : 1 : 0.2) の各混合液の各1.35 リットルを用い、順次に展開を行った。フラクションコレクターによって、シリカゲルカラムからの溶出液を、フラクションNo. 1 ~ 53では20gずつ分画し、フラクションNo. 54 ~ 117では19gずつ分画して集めると、カプラザマイシン類を含む活性画分は、フラクションNo. 66 ~ 83に溶出された。これら活性画分を集めて減圧下で濃縮乾固し、625.3 mgのカプラザマイシン類を含む粗精製物を得た。

このカプラザマイシン類を含む粗精製物にメタノール 5 mlを加えて溶解した。得られた溶液を5℃の冷暗下に静置すると、カプラザマイシン類を含む析出沈殿画分の 537.3 mgを得た。

つづいて、このカプラザマイシン類を含む析出沈殿をHPLC (CAPCELL PAK C18 ϕ 20×250mm、資生堂製)を用い精製した。このHPLCでは、展開溶媒として50%アセトニトリル水-0.05%ギ酸 (流速 : 120 ml/min)により展開すると、61~68分後にカプラザマイシン A が溶出され、52~60分後にカプラザマイシン B が溶出され、39~41分後にカプラザマイシン C が溶出され、25~28分後にカプラザマイシン E が溶出され、また22~25分後にカプラザマイシ

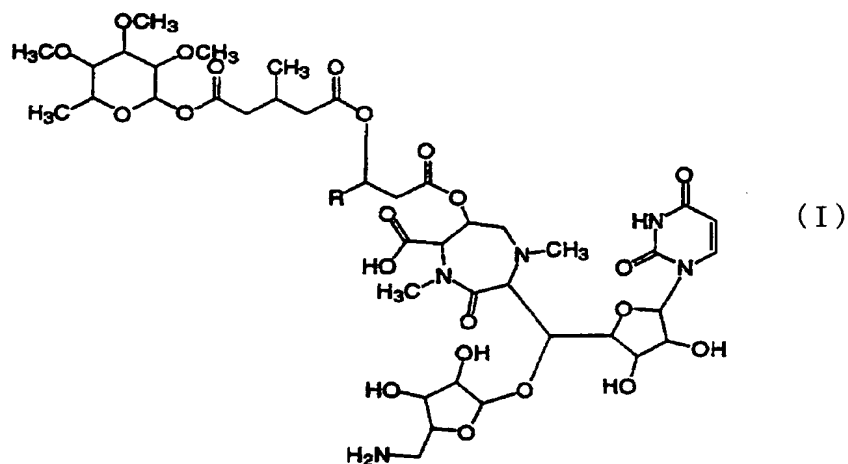
ン F が溶出された。それぞれの活性分画を集めて、減圧下で濃縮乾固することにより、カプラザマイシン A を 56.9mg、カプラザマイシン B を 90.3mg、カプラザマイシン C を 19.7mg、カプラザマイシン E を 30.3mg、およびカ
5 プラザマイシン F を 25.5mg 得た。

産業上の利用可能性

以上に説明したとおり、本発明により新規な抗生物質として一般式 (I) で表されるカプラザマイシン A、B、C、E および F は、それぞれに、各種の抗酸性菌、細菌
10 およびそれらの薬剤耐性菌株に対してすぐれた抗菌活性を有する。従って、本発明のカプラザマイシン類は抗酸性菌および細菌の感染症を治療するのに有効であって有用である。

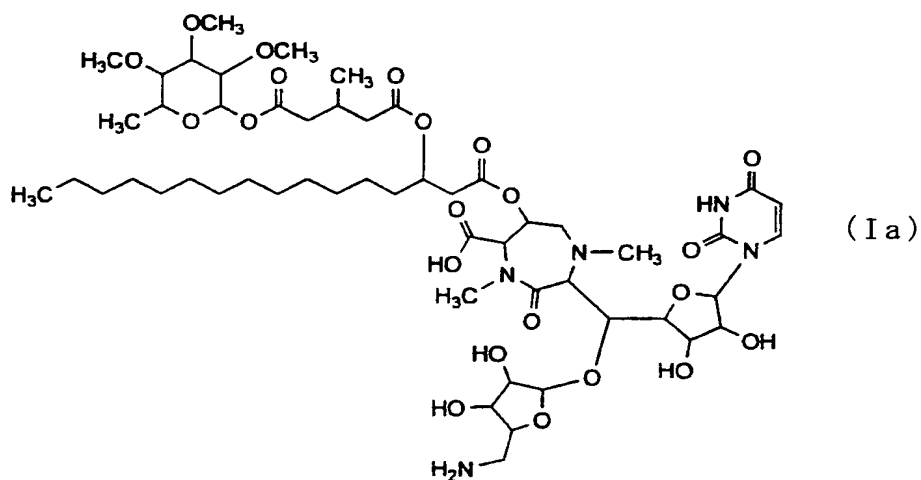
請求の範囲

1. 次の一般式 (I)



- 〔式中、RはカブラザマイシンAではトリデシル基であり、カブラザマイシンBでは11-メチルドデシル基であり、カブラザマイシンCではドデシル基であり、カブラザマイシンEではウンデシル基であり、そしてカブラザマイシンFでは9-メチルーデシル基である〕で示される化合物である、抗生物質カブラザマイシンA、カブラザマイシンB、カブラザマイシンC、カブラザマイシンEまたはカブラザマイシンF、あるいはそれらの製薬学的に許容できる塩。

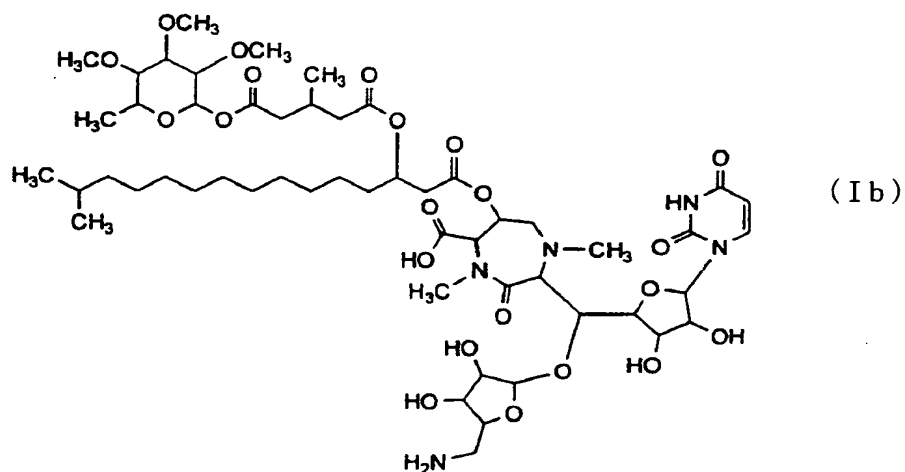
2. 次式 (Ia)



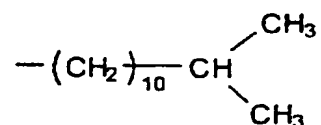
で示されるカプラザマイシン A [請求の範囲 1 に示される一般式 (I) の化合物で R がトリデシル基 $-(CH_2)_{12}-CH_3$ である場合の化合物] である請求の範囲 1 に記載

5 の抗生物質。

3. 次式 (Ib)

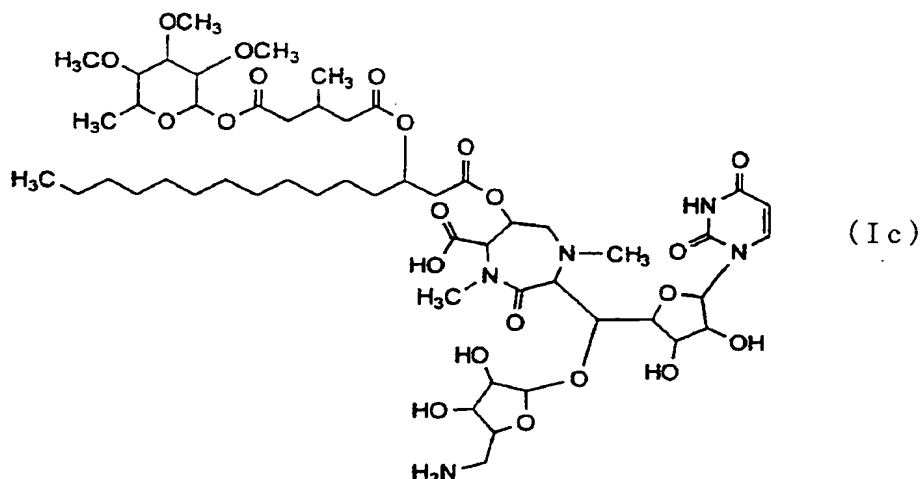


で示されるカプラザマイシン B [請求の範囲 1 に示される一般式 (I) の化合物で R が 11-メチルードデシル基



である場合の化合物] である請求の範囲 1 に記載の抗生物質。

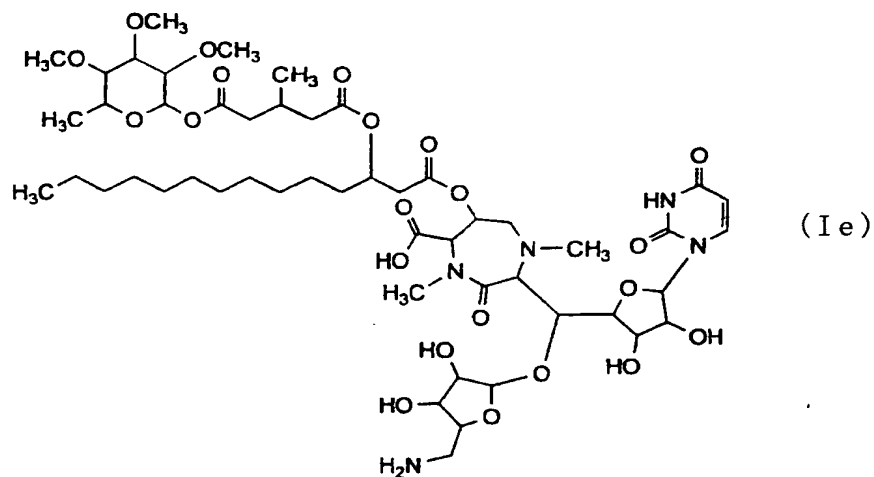
4. 次式 (Ic)



5

で示されるカプラザマイシン C [請求の範囲 1 に示される一般式 (I) の化合物で R がドデシル基 $-(\text{CH}_2)_{11}-\text{CH}_3$ である場合の化合物] である請求の範囲 1 に記載の抗生物質。

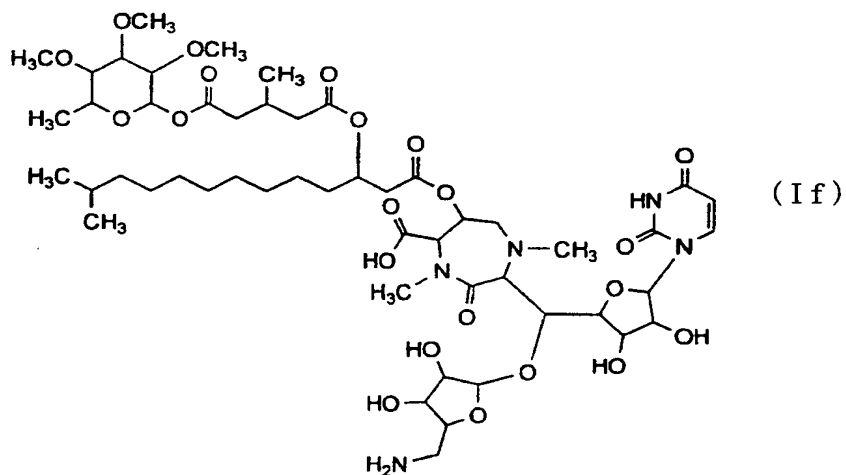
10 5. 次式 (Ie)



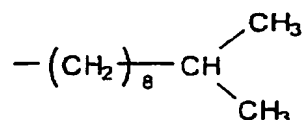
で示されるカブラザマイシン E [請求の範囲 1 に示される一般式 (I) の化合物で R がウンデシル基 $-(CH_2)_{10}-CH_3$ である場合の化合物] である請求の範囲 1 に記載の抗生

5 物質。

6. 次式 (If)



で示されるカブラザマイシン F [請求の範囲 1 に示される一般式 (I) の化合物で R が 9-メチルーデシル基



である場合の化合物] である請求の範囲 1 に記載の抗生物質。

7. ストレプトミセス属に属して、請求の範囲 1 に記載
5 の一般式 (I) で示される抗生物質カブラザマイシン A、
カブラザマイシン B、カブラザマイシン C、カブラザマイ
シン E およびカブラザマイシン F の少くとも一つを生
産する生産菌を培養し、その培養物から、カブラザマイ
シン A、B、C、E および F の少くとも一つを採取する
10 ことを特徴とする、請求の範囲 1 に記載の抗生物質カブ
ラザマイシン A、B、C、E および (または) F の製造
方法。

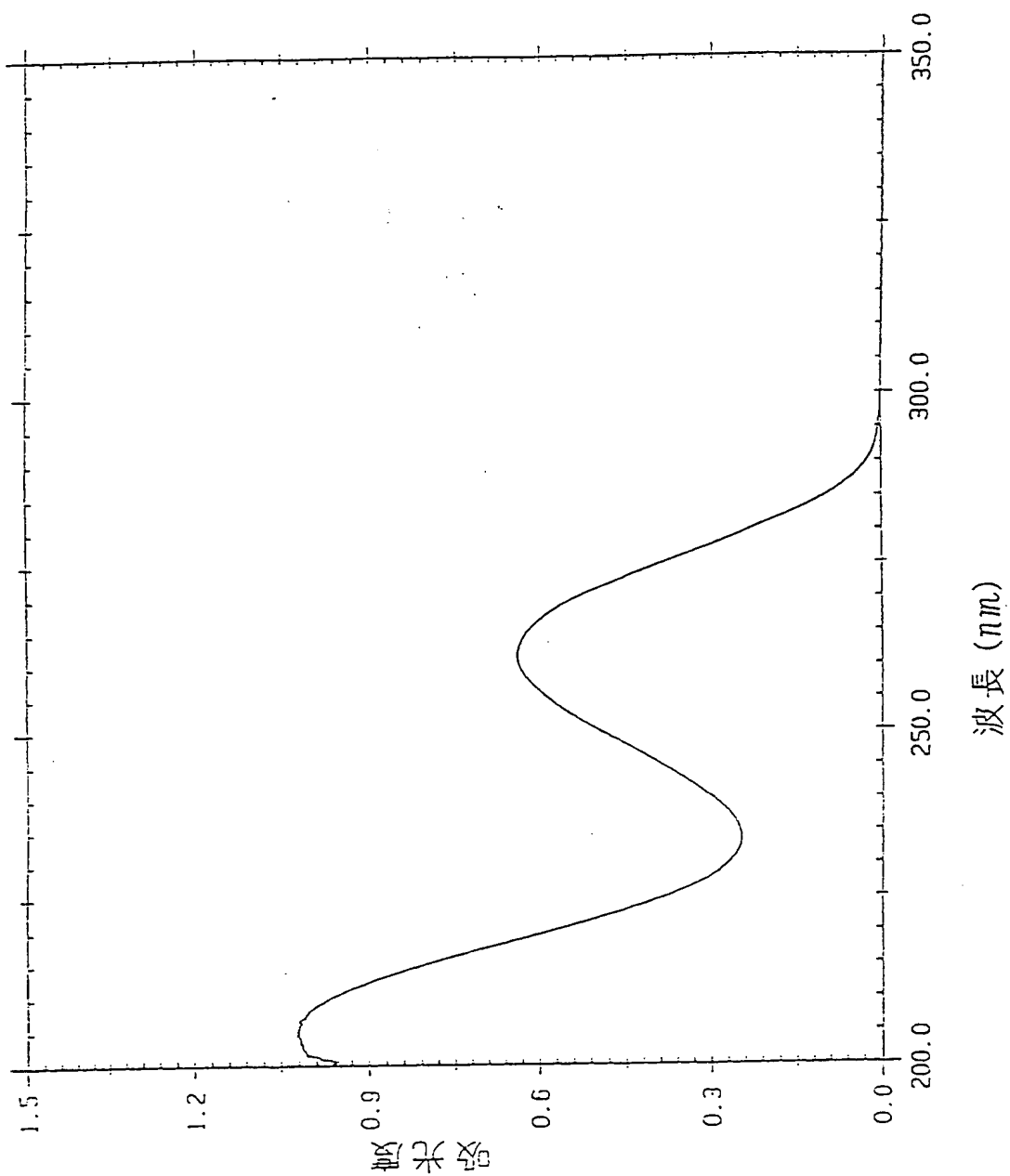
8. カブラザマイシン A、B、C、E および F の少くとも一つを生産する菌として、工業技術院生命工学工業技
15 術研究所にブダペスト条約の規約下に FERM BP-7218 の受
託番号で寄託されてあるストレプトミセス・エスピー MK
730-62F2 を使用する、請求の範囲 7 に記載の方法。

9. 請求の範囲 1 に記載の一般式 (I) で示される抗生物質カブラザマイシン A、B、C、E および F の少なく
20 とも一つ、あるいはその製薬学的に許容できる塩を有効
成分として含有し、また製薬学的に許容される担体を、
有効成分と混和して含有する医薬組成物。

10. 抗細菌性組成物である請求の範囲 9 に記載の組成物。
11. 請求の範囲 1 に記載の一般式 (I) で示される抗生物質カプラザマイシン A、B、C、E および F を生産する特性を持ち且つ工業技術院生命工学工業技術研究所に
- 5 FERM BP-7218 の受託番号で寄託されたストレプトミセス・エスピー MK730-62F2。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

1/20

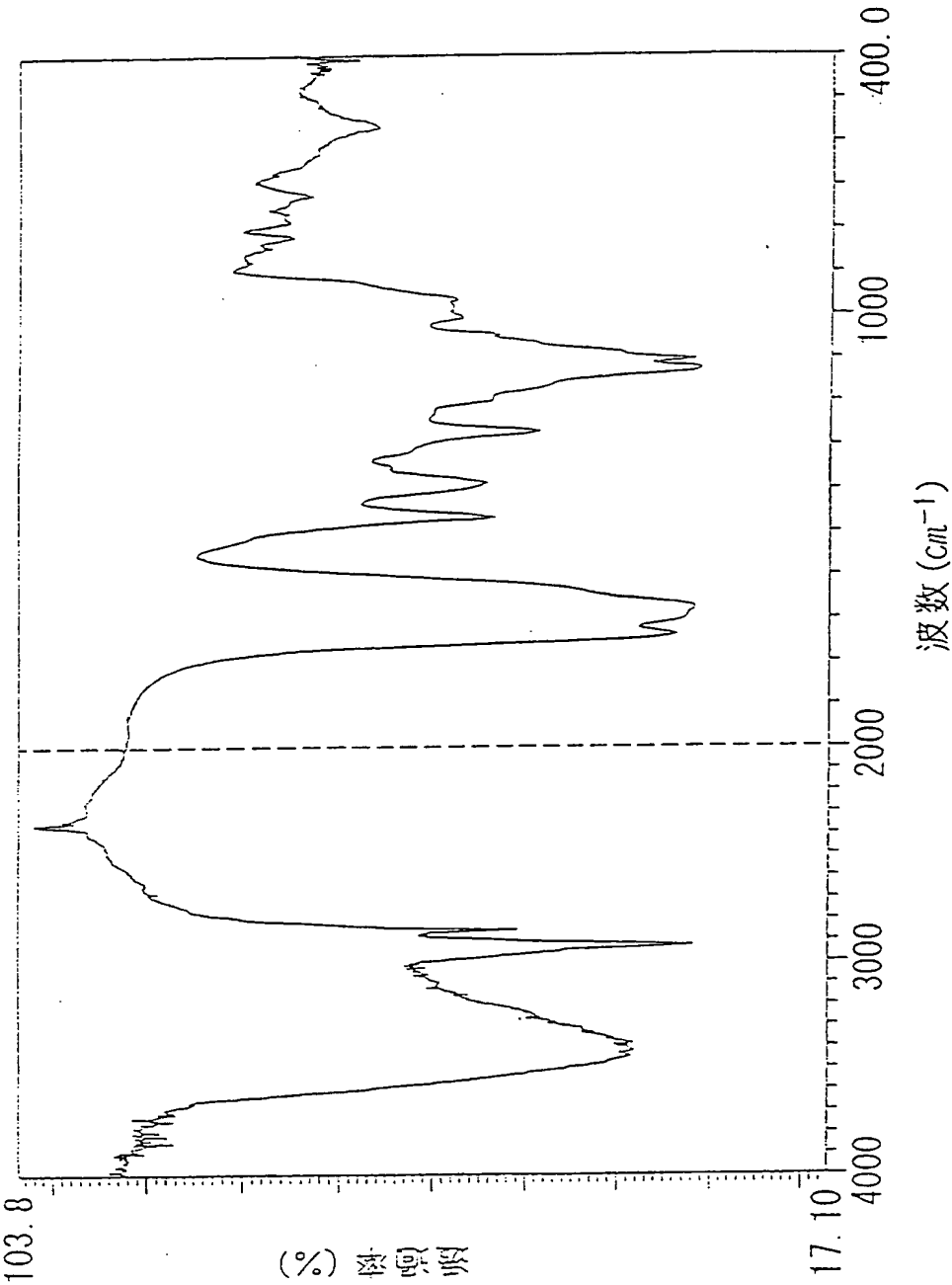


第1図

THIS PAGE BLANK (USPTO)

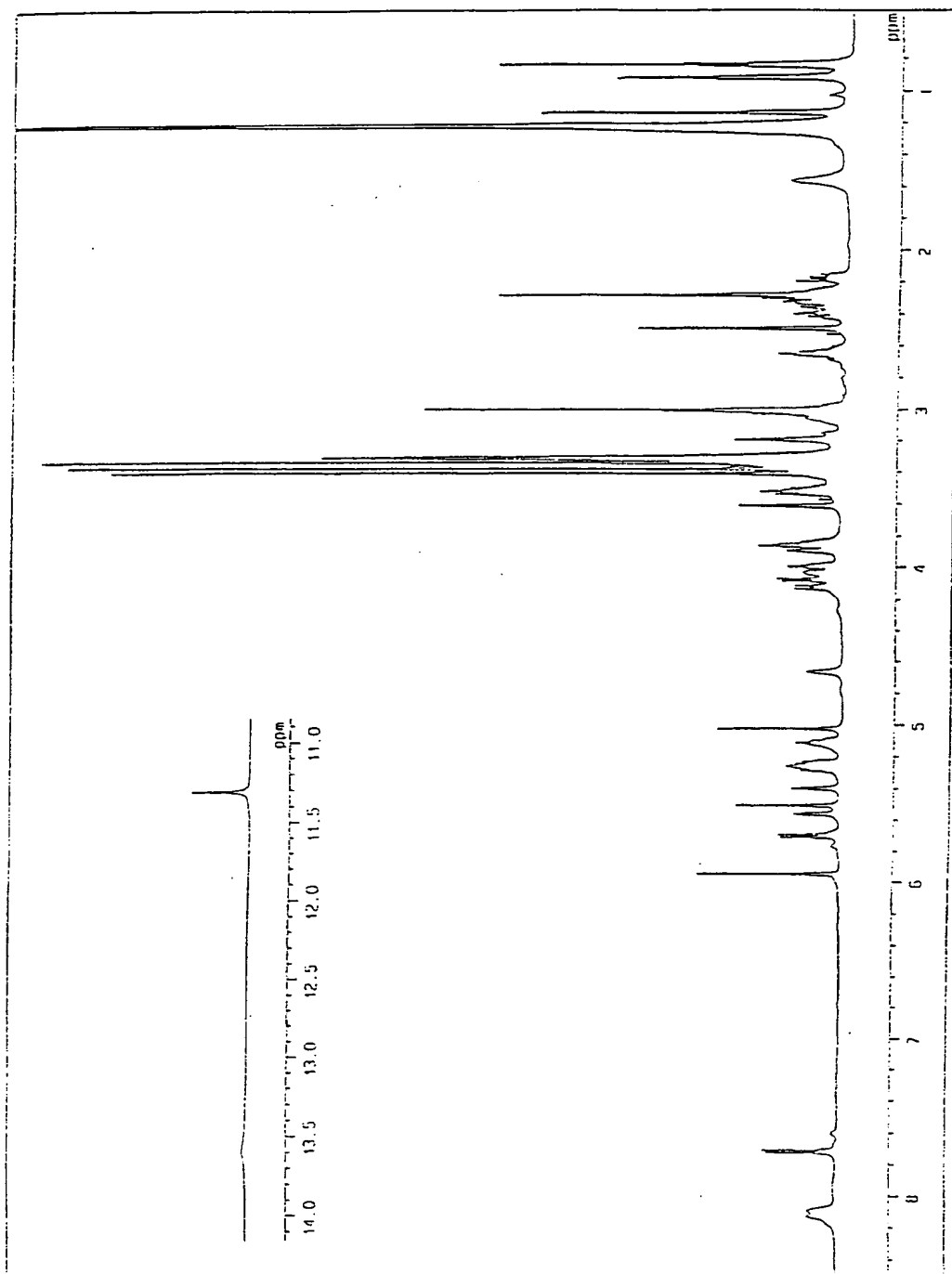
2 / 2 0

第2図



THIS PAGE BLANK (USPTO)

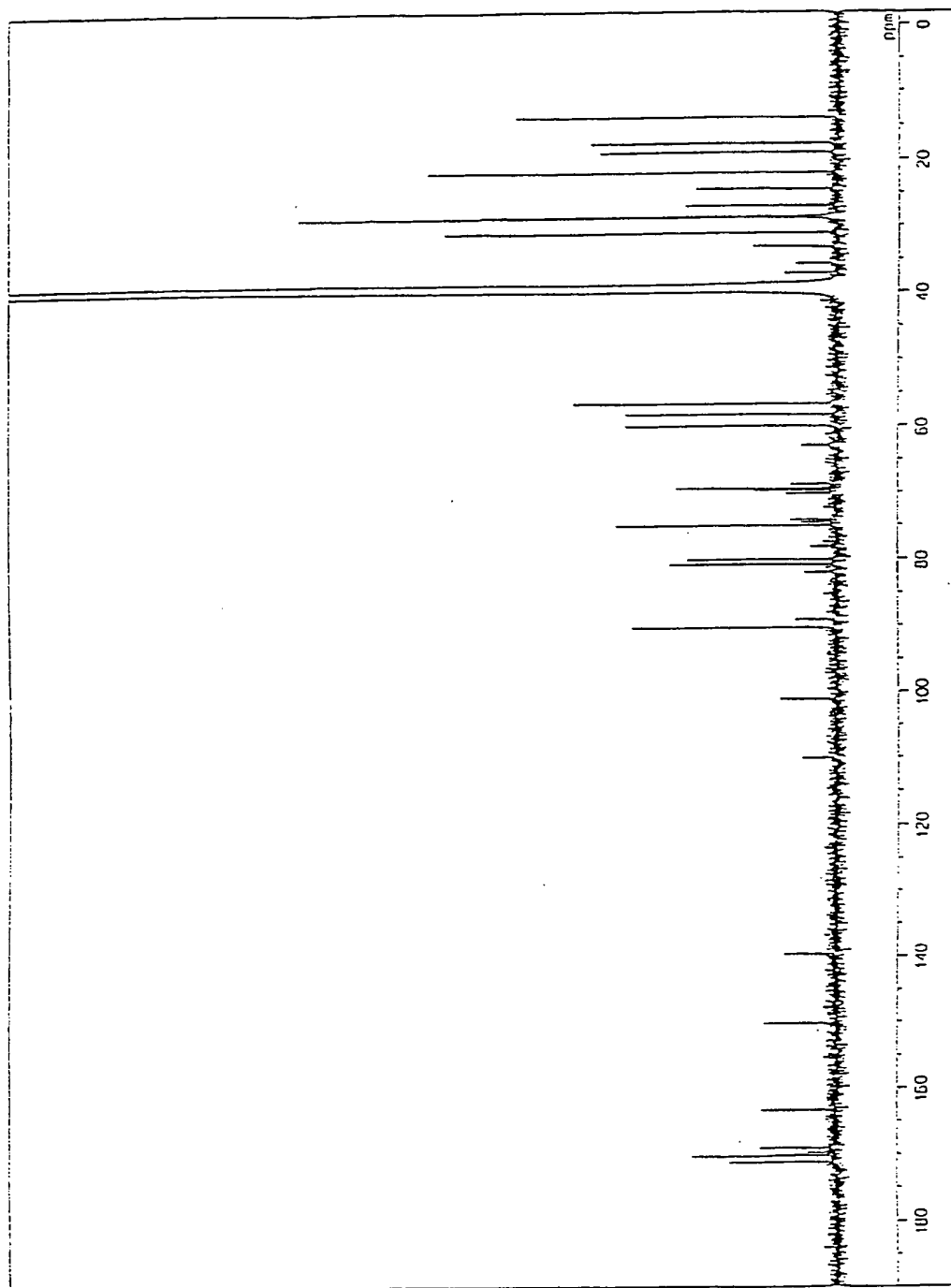
3 / 20



THIS PAGE BLANK (USPTO)

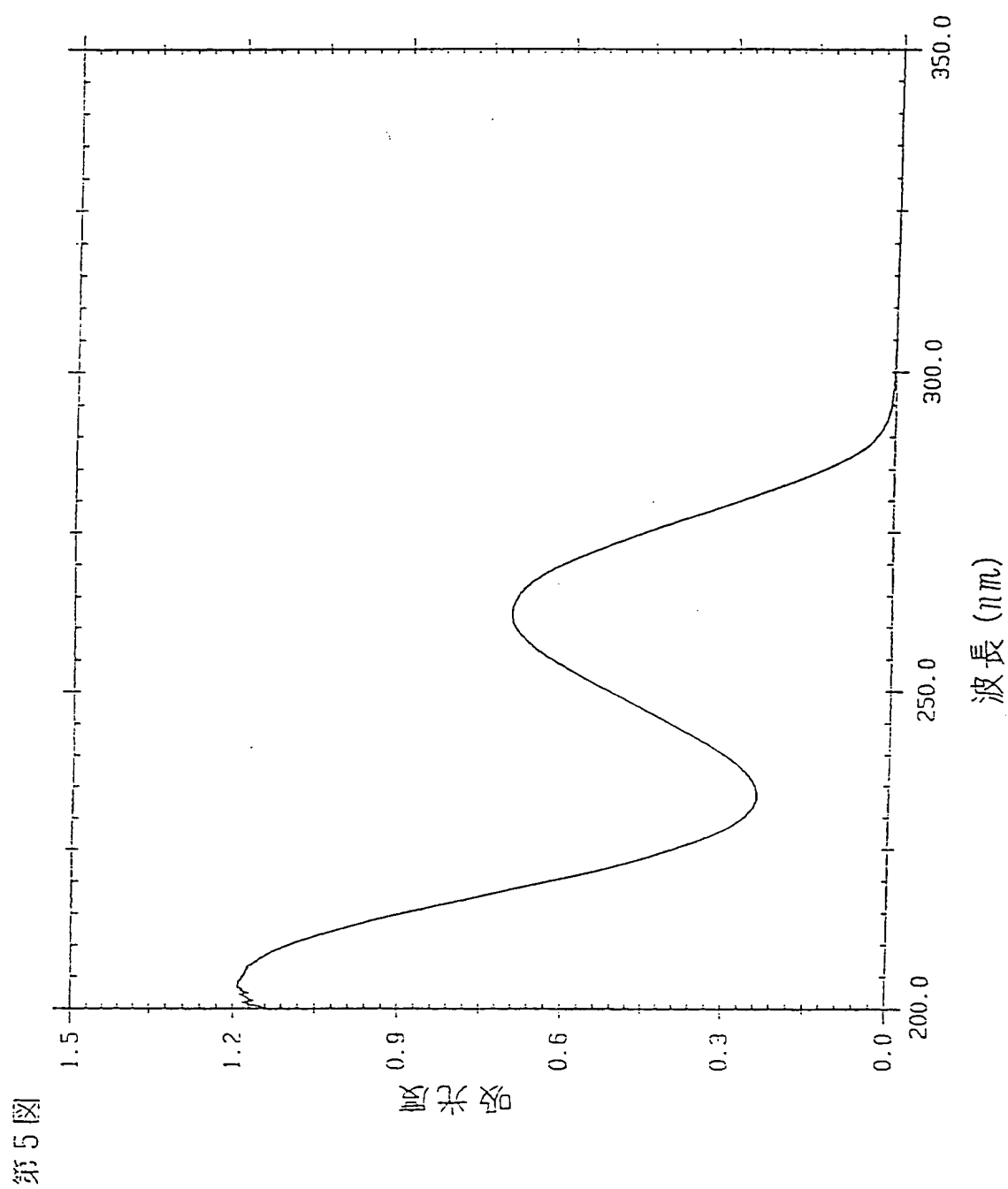
4 / 2 0

第 4 図



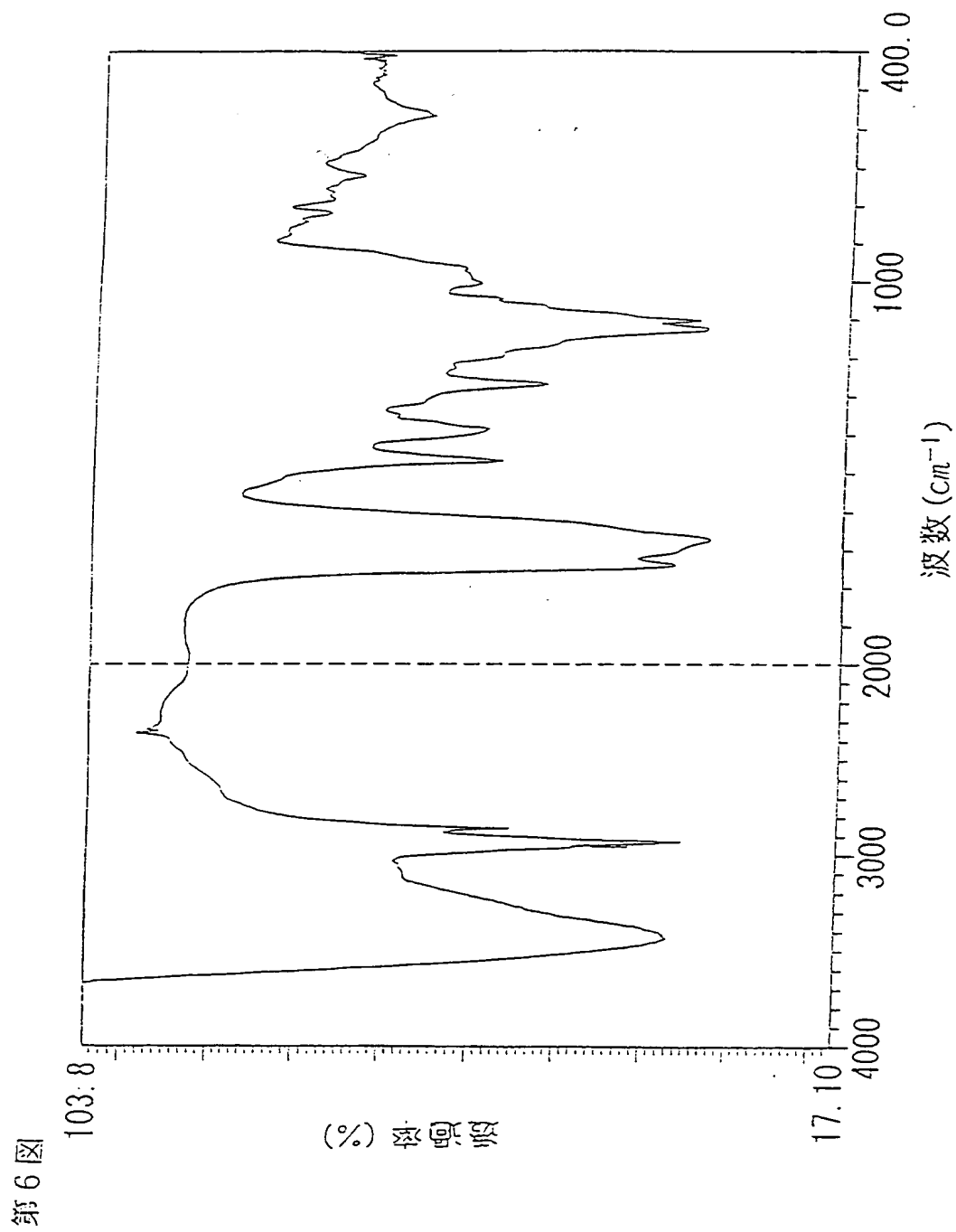
THIS PAGE BLANK (USPTO)

5 / 20



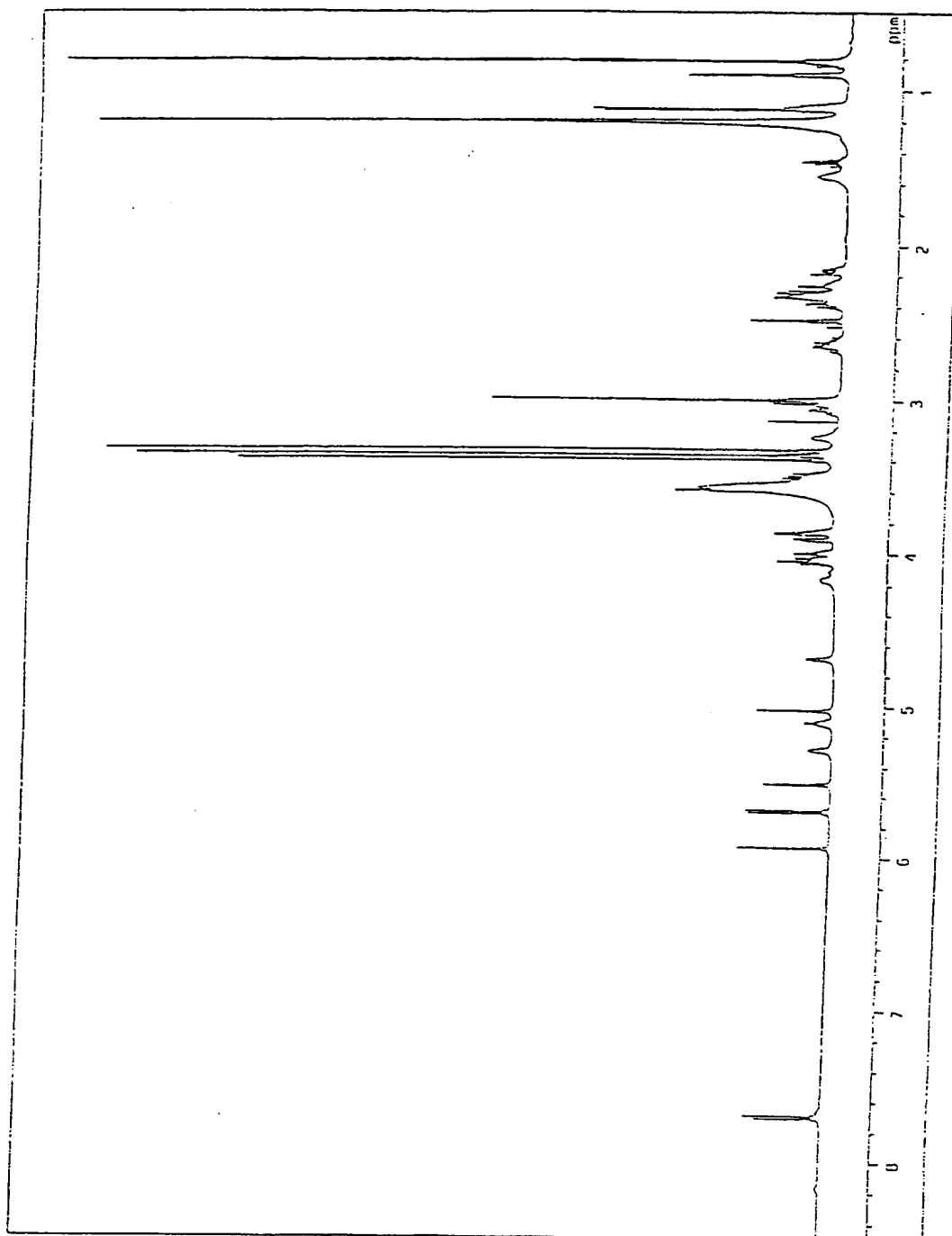
THIS PAGE BLANK (USPTO)

6/20



THIS PAGE BLANK (USPTO)

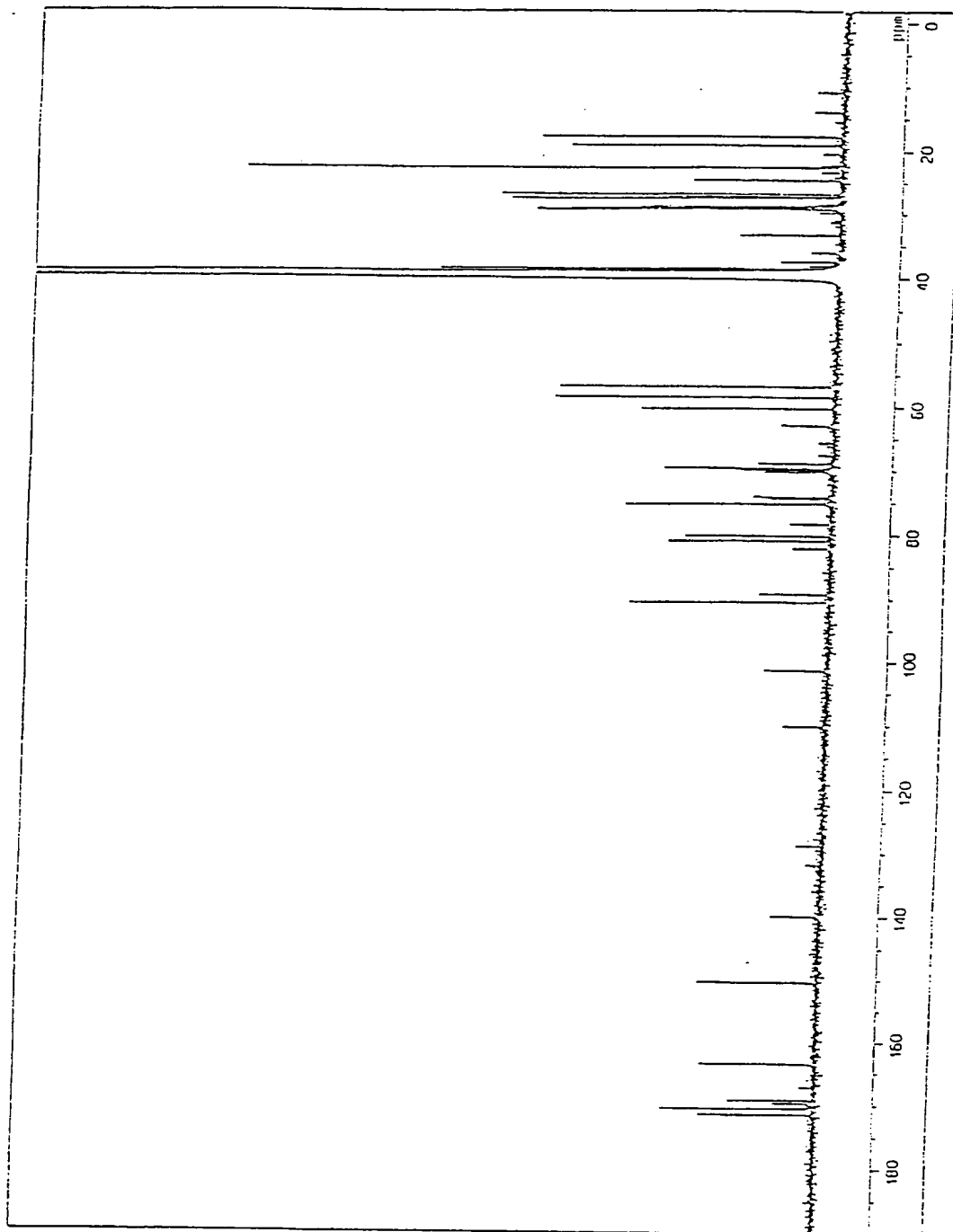
7/20



第7図

THIS PAGE BLANK (USPTO)

8 / 20

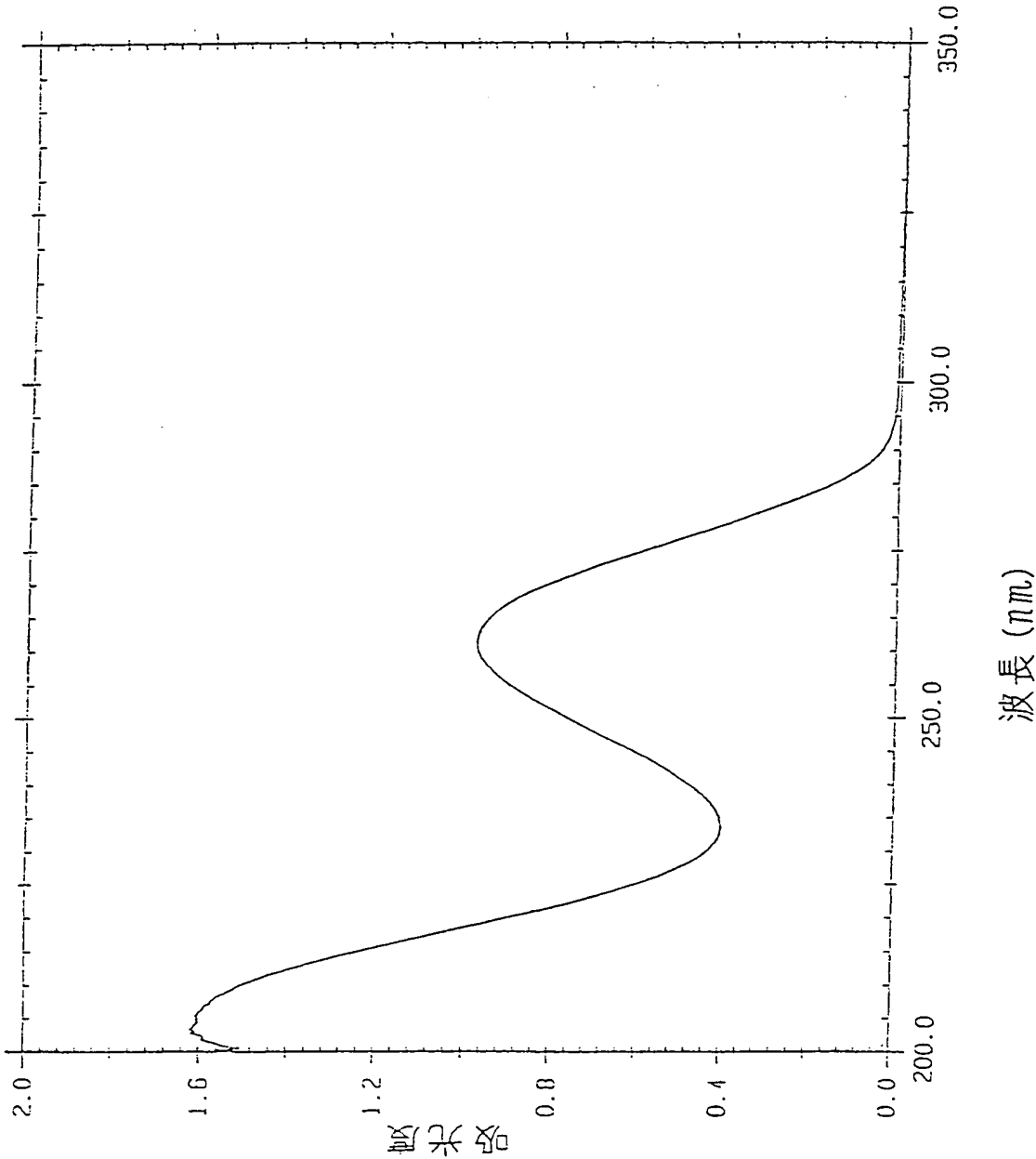


第 8 図

THIS PAGE BLANK (USPTO)

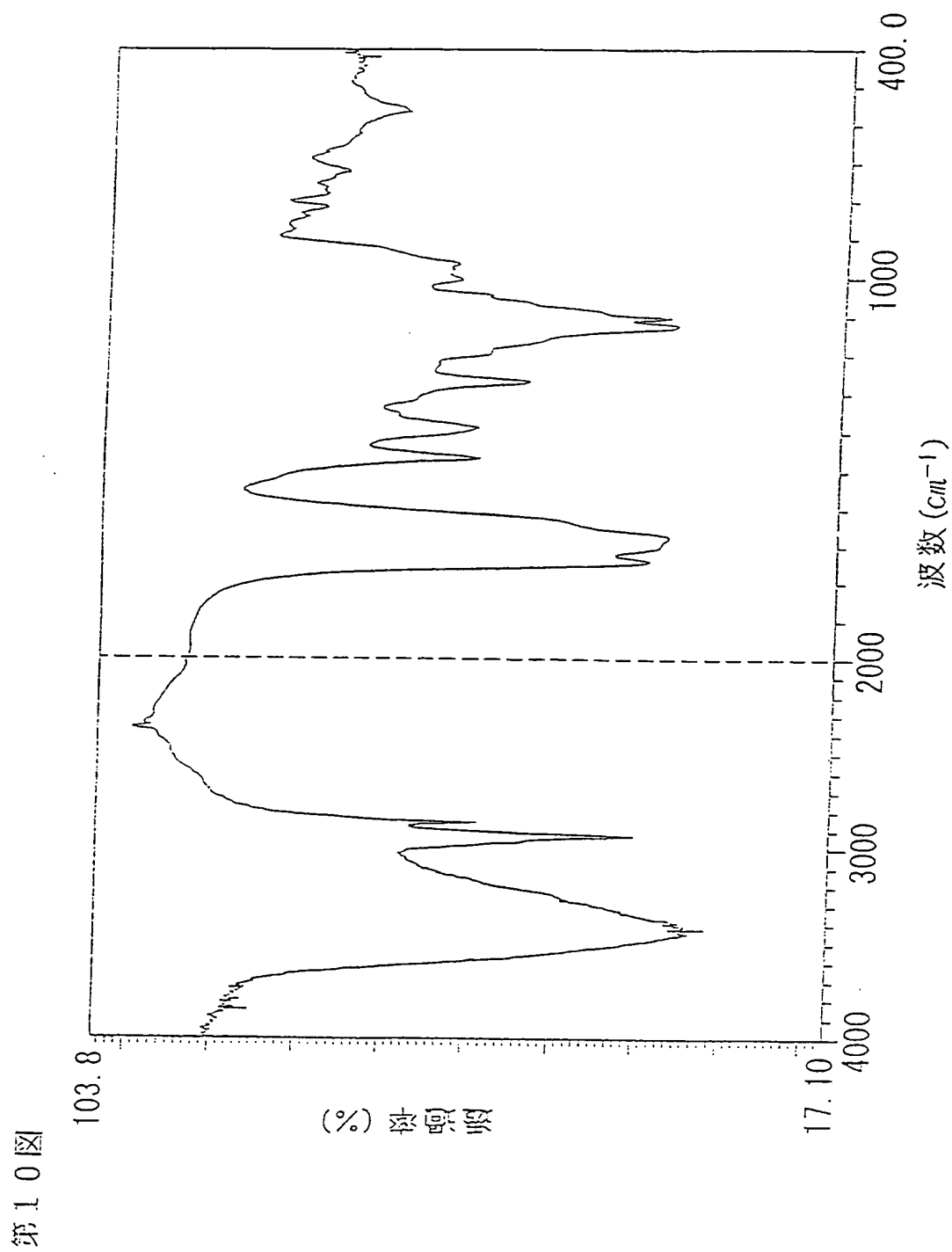
9 / 20

第9図



THIS PAGE BLANK (USPTO)

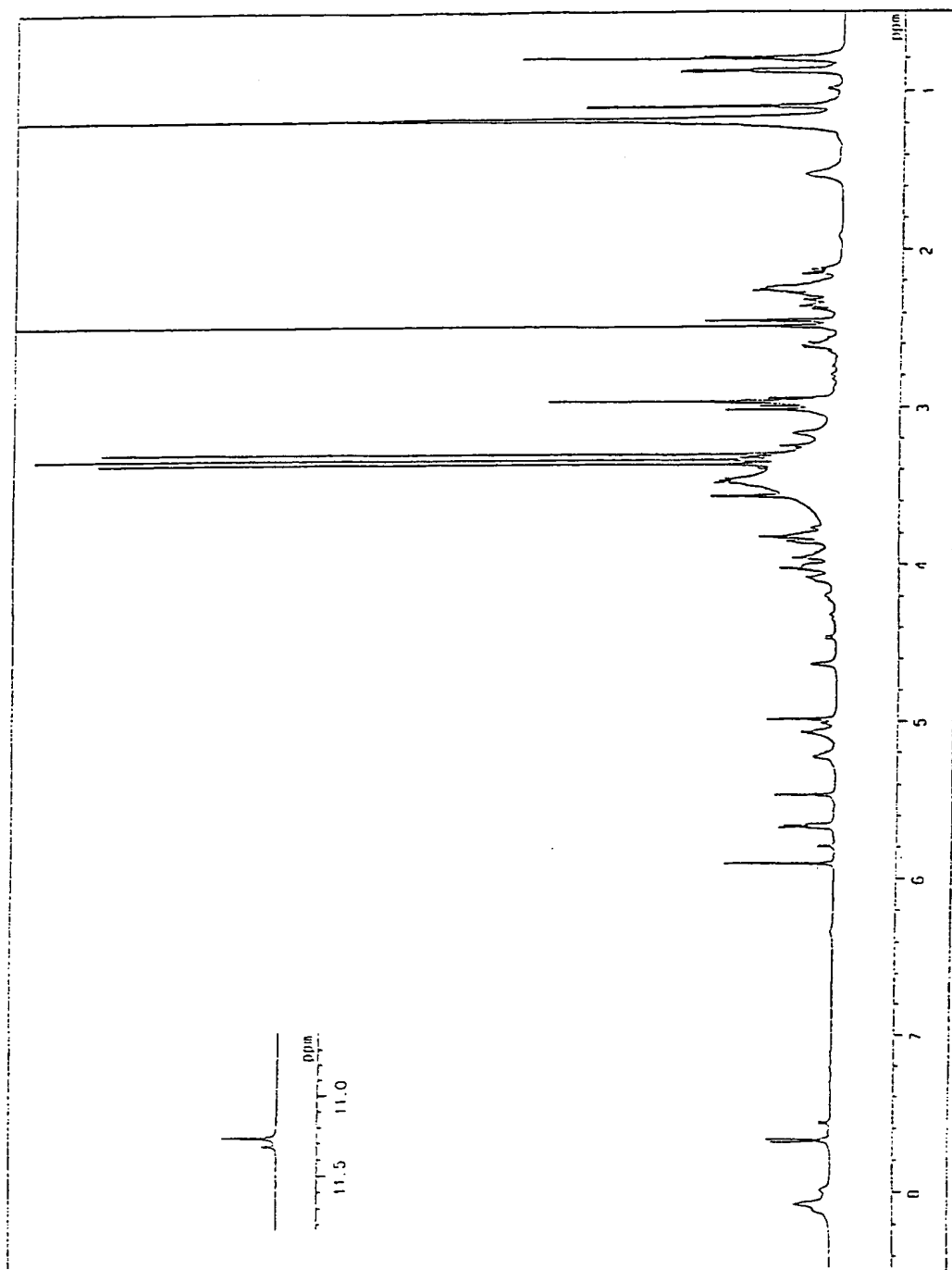
10/20



THIS PAGE BLANK (USPTO)

11/20

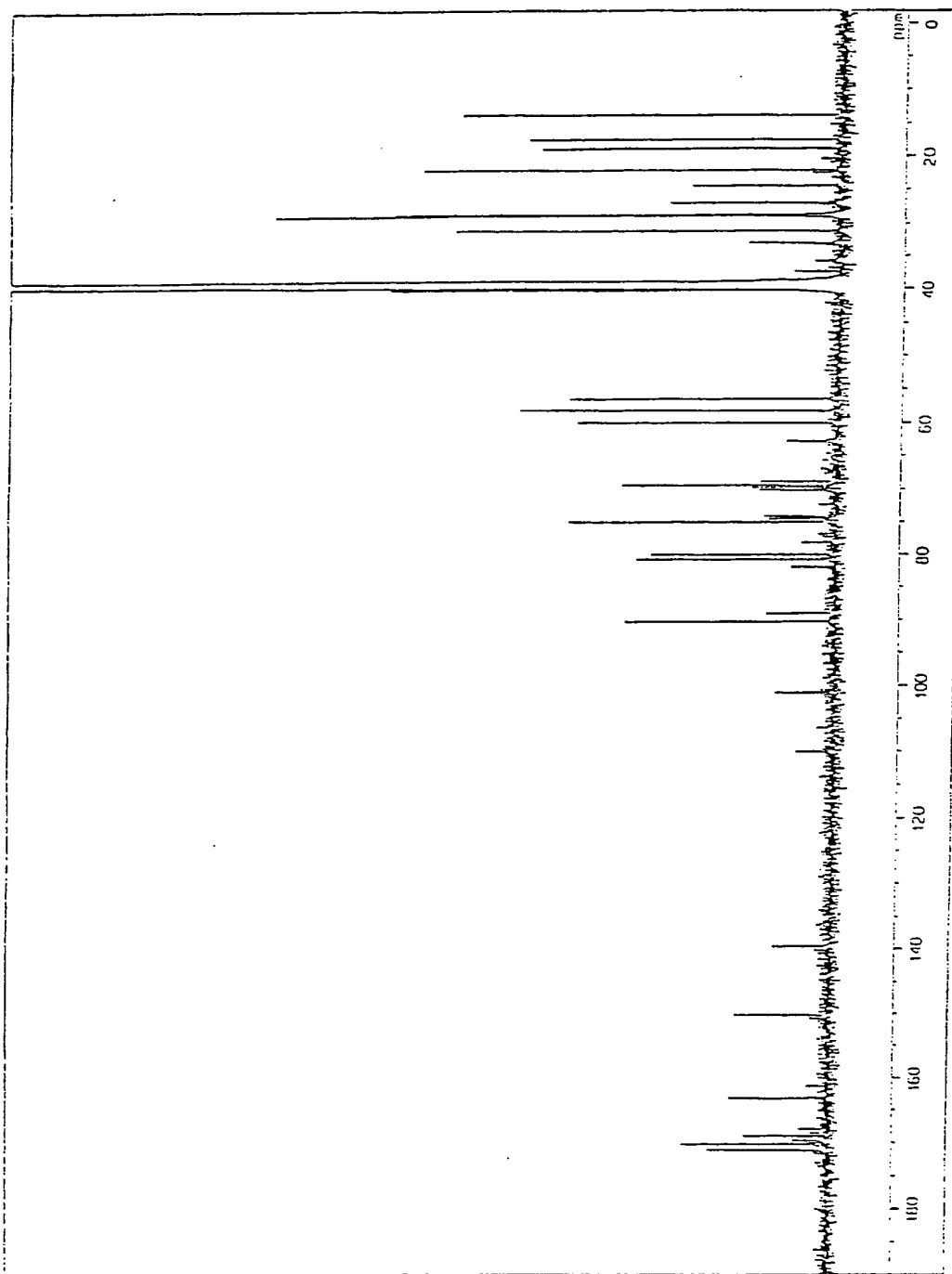
第11図



THIS PAGE BLANK (USPTO)

12/20

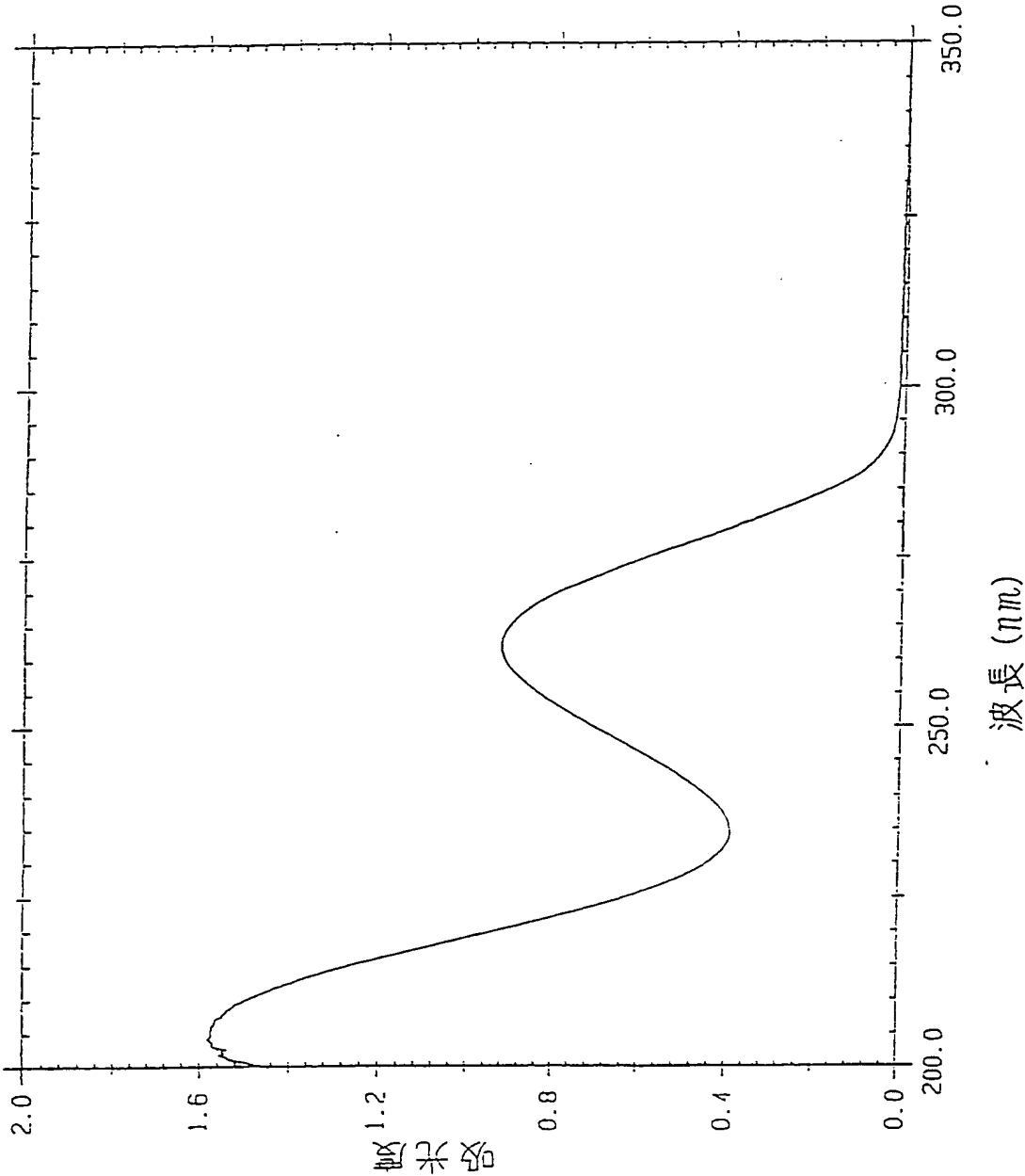
第12図



THIS PAGE BLANK (USPTO)

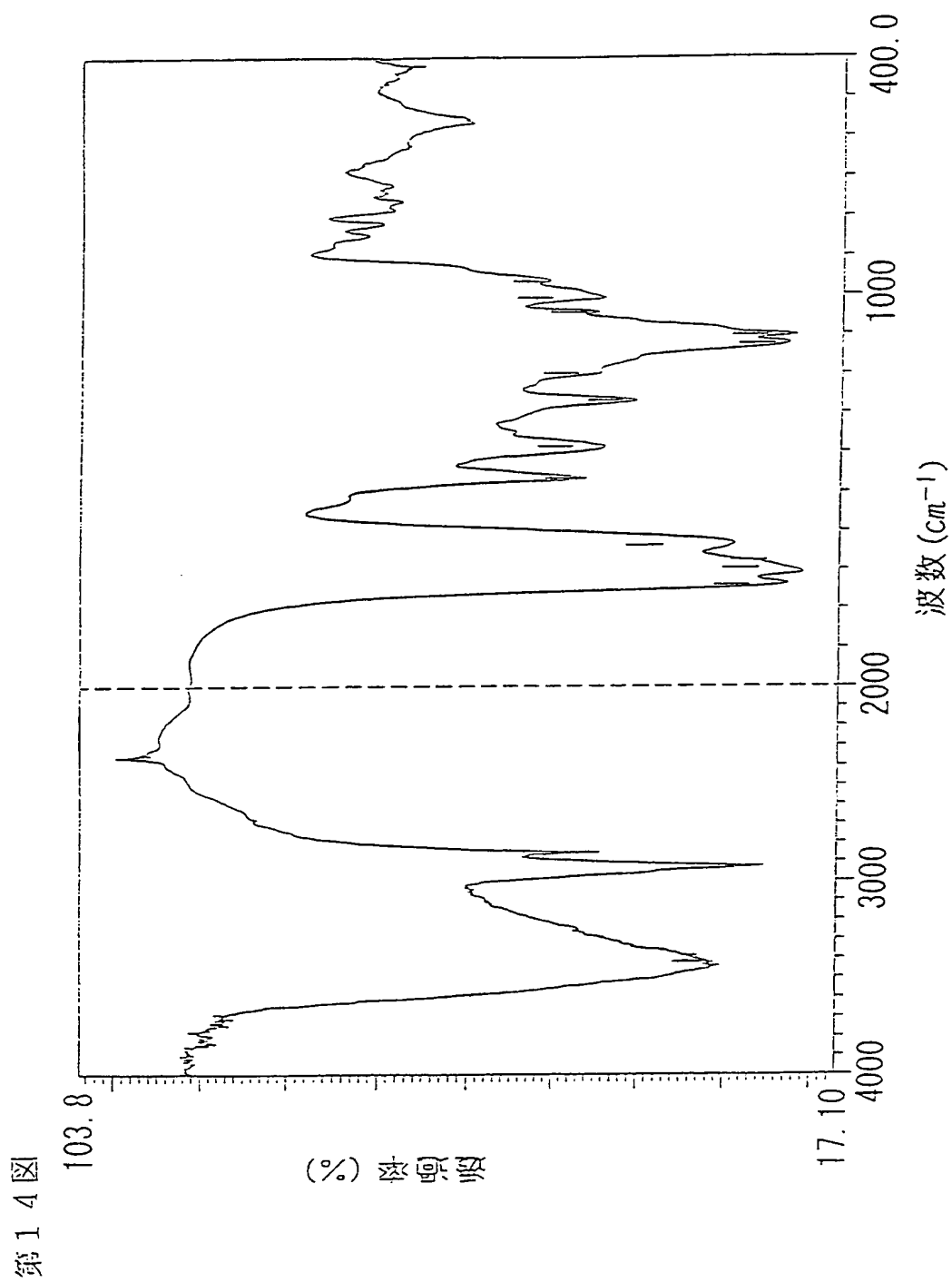
13 / 20

第13図



THIS PAGE BLANK (USPTO)

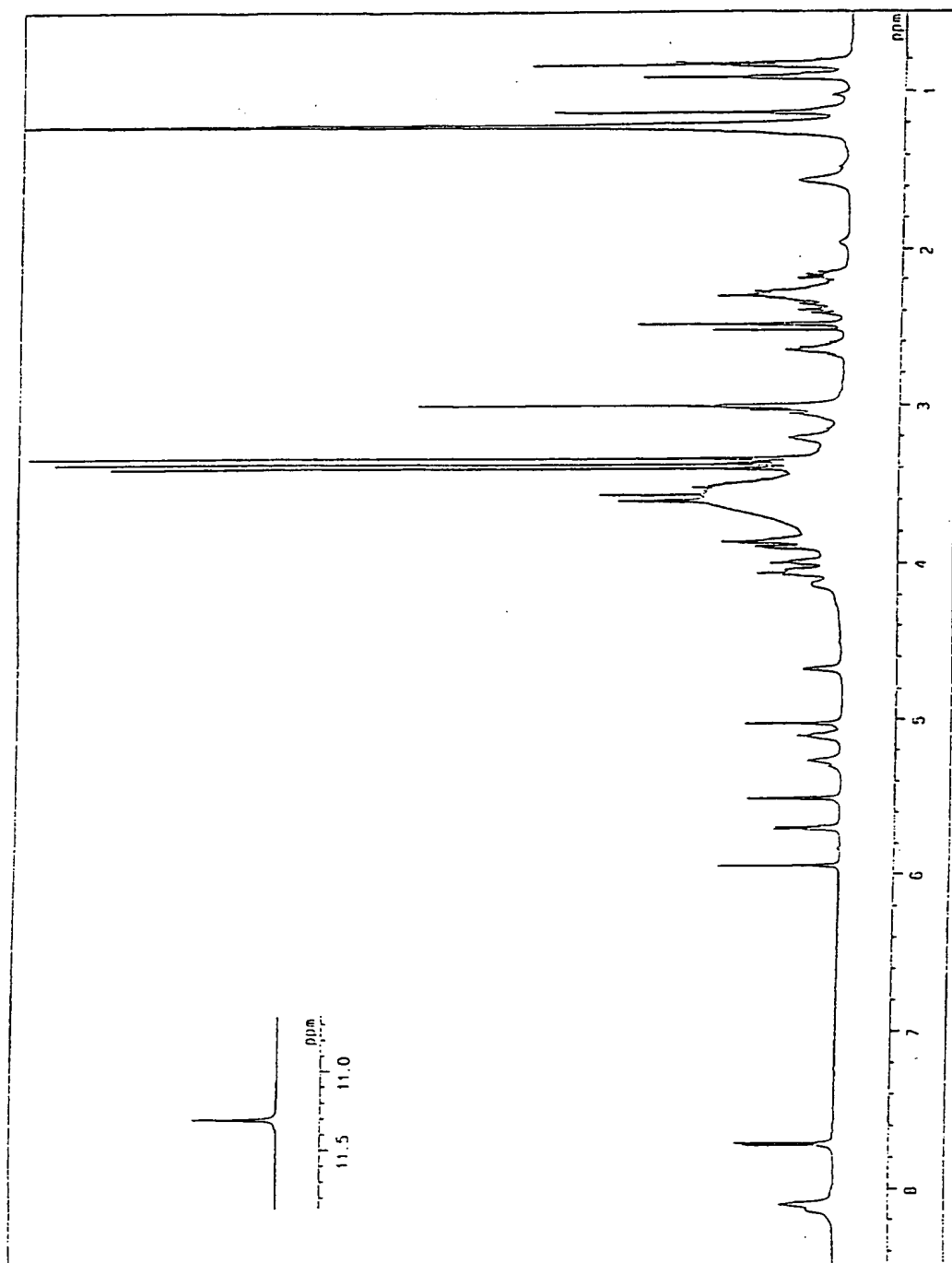
14/20



THIS PAGE BLANK (USPTO)

15/20

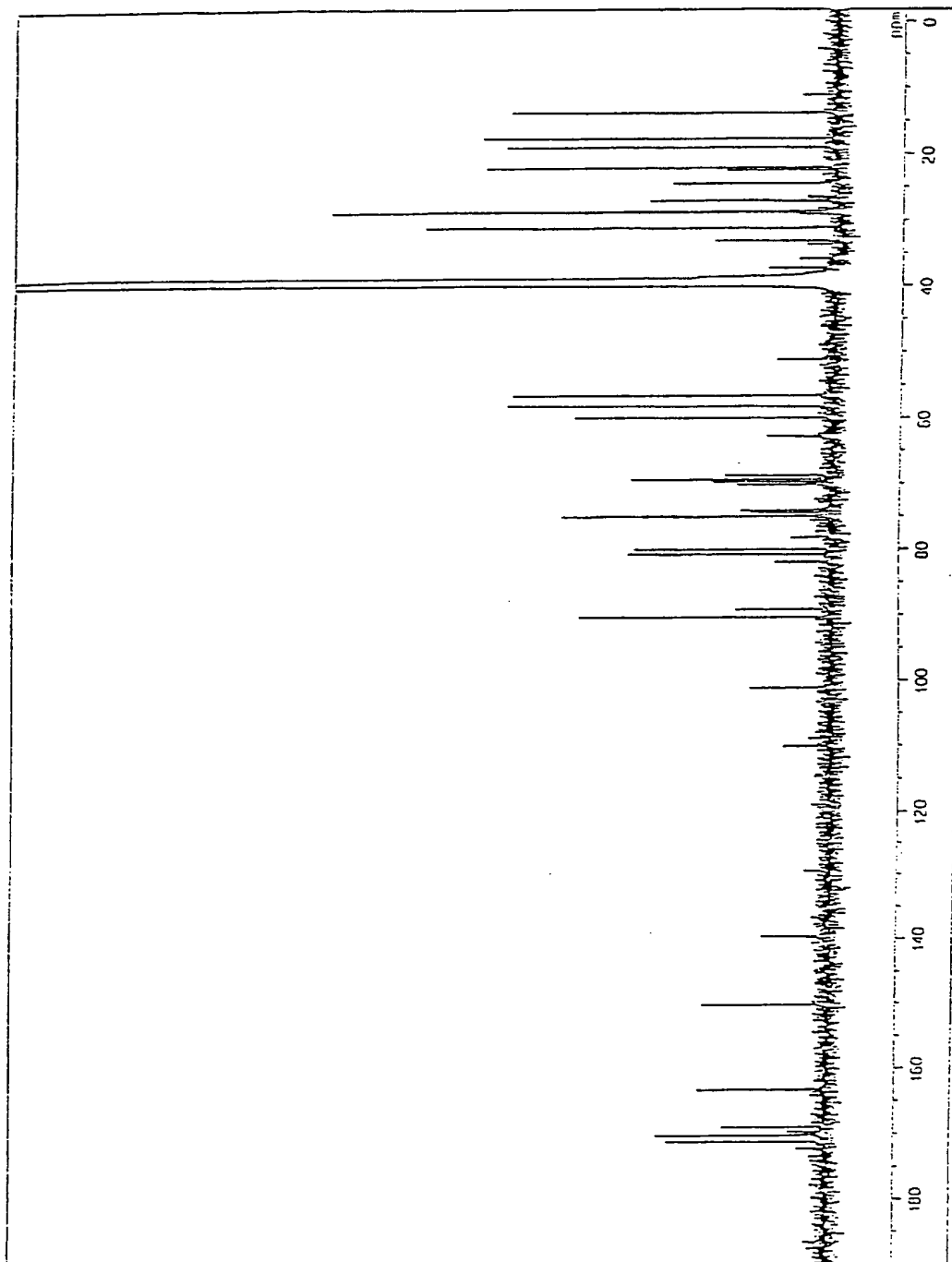
第15図



THIS PAGE BLANK (USPTO)

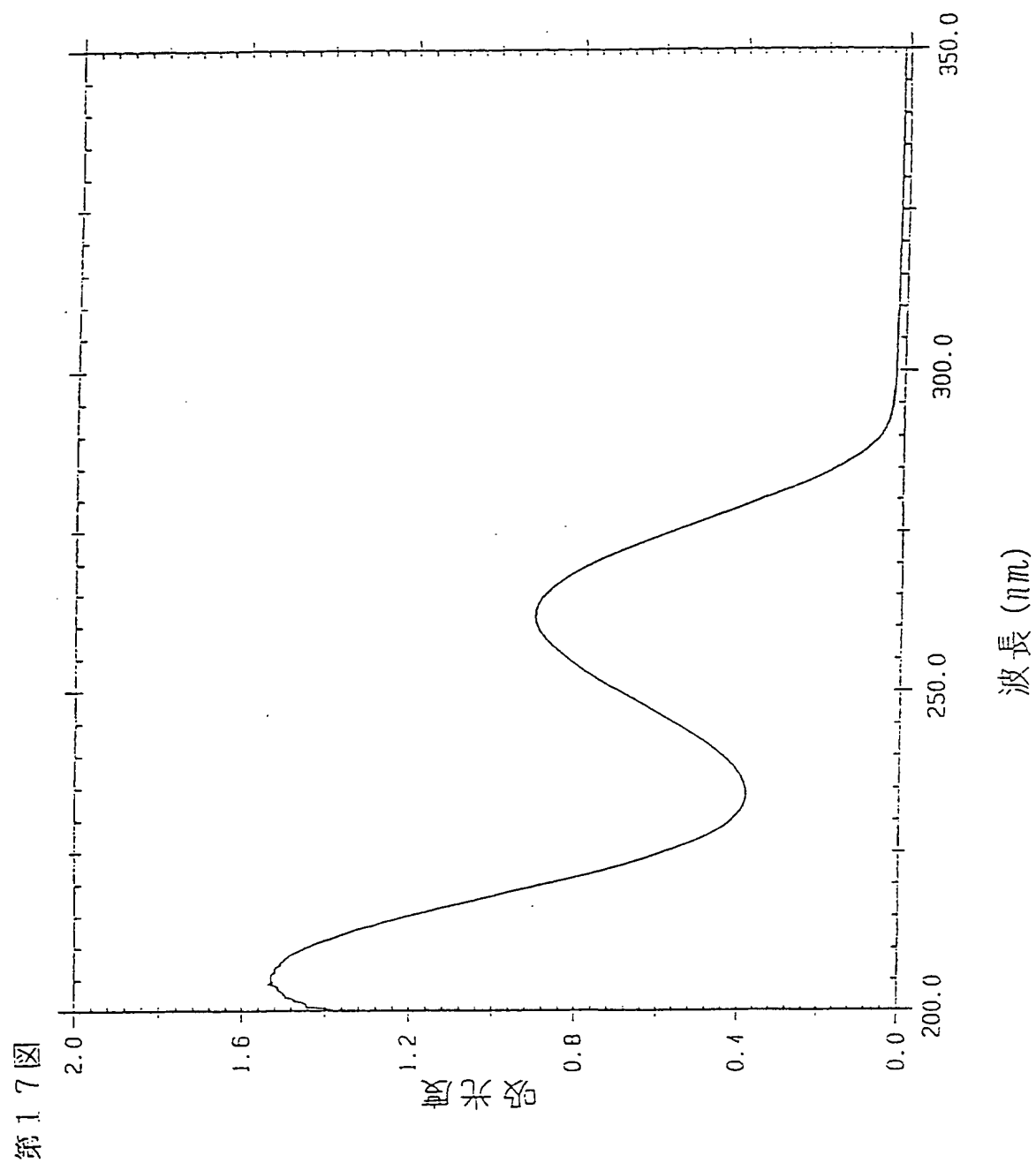
16/20

第16図



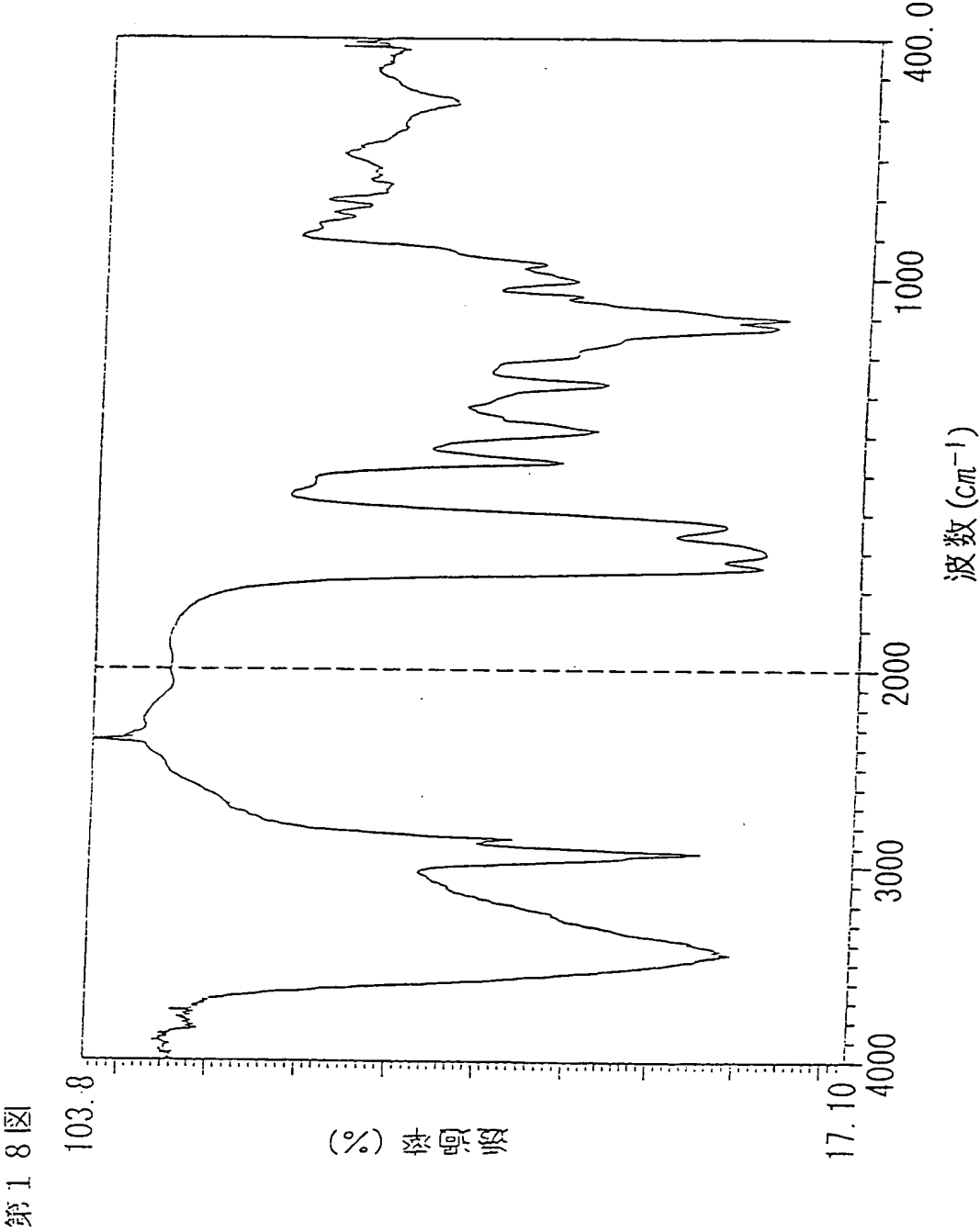
THIS PAGE BLANK (USPTO)

17/20



THIS PAGE BLANK (USPTO)

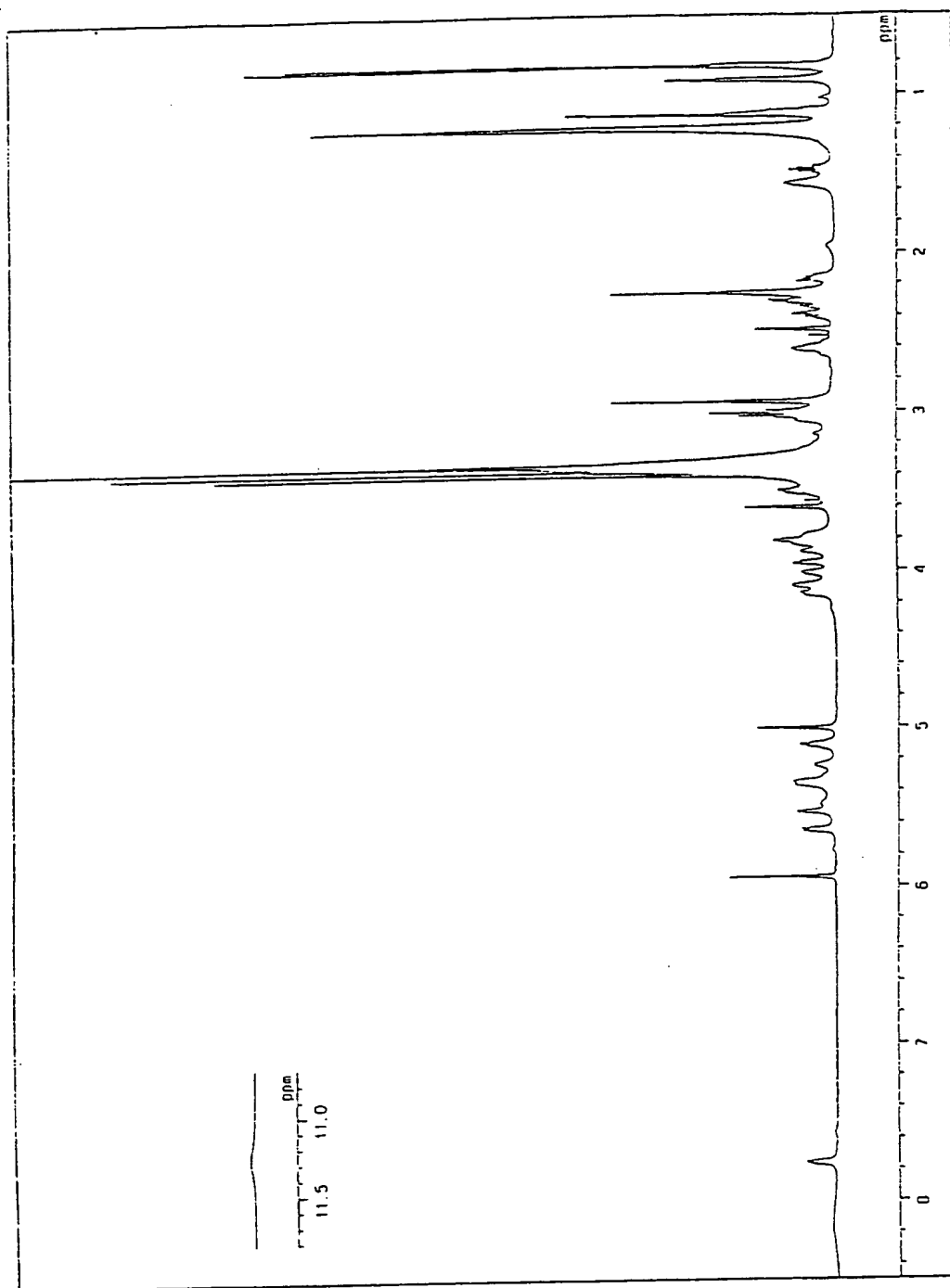
18 / 20



THIS PAGE BLANK (USPTO)

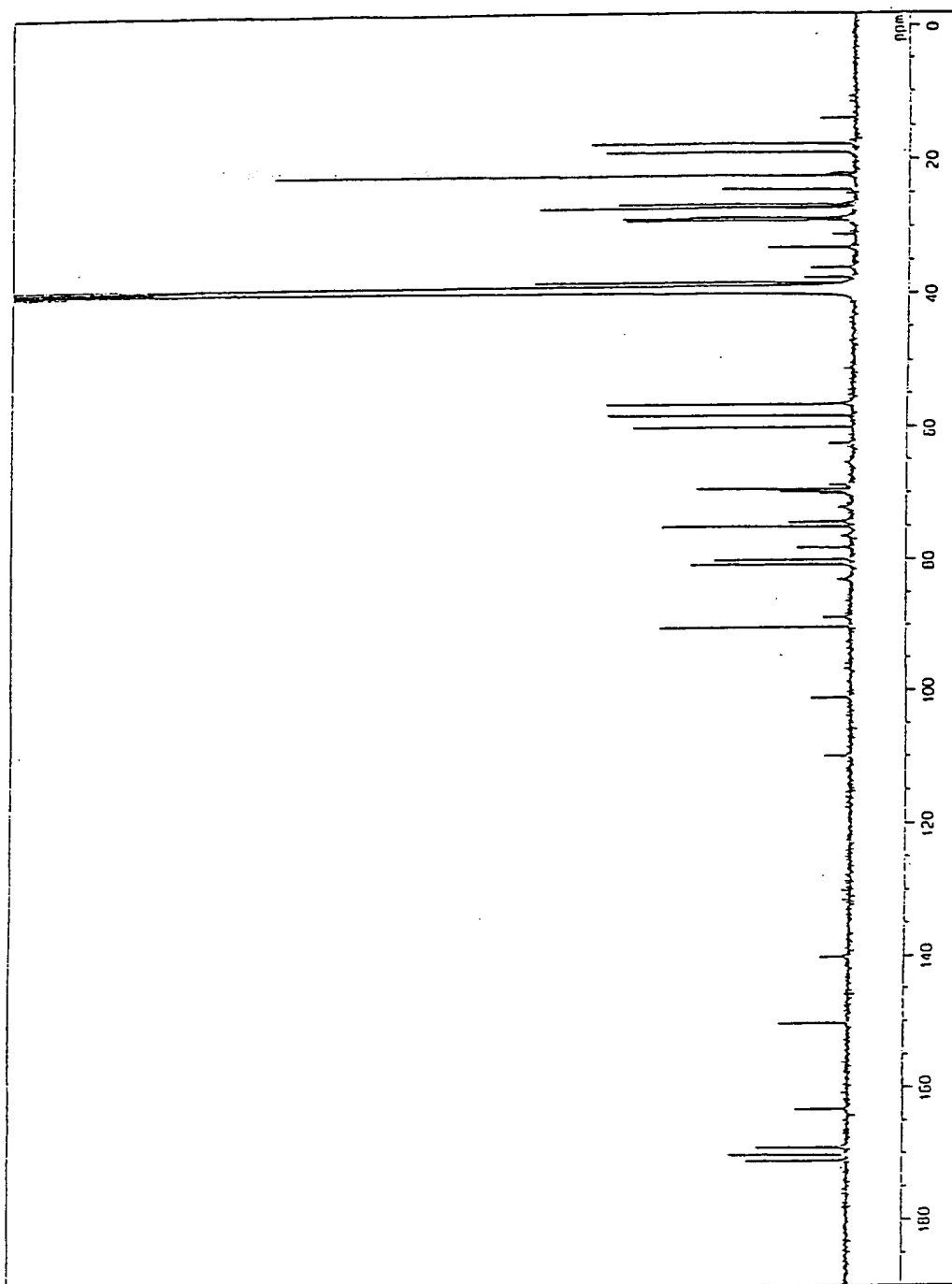
19/20

第19図



THIS PAGE BLANK (USPTO)

20/20



THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/05415

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C07H 19/067, C12P 17/16, C12N 1/20, A61K 31/7072, A61P 31/04
 //(C12P 17/16, C12R 1:465) (C12N 1/20, C12R 1:465)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C07H 19/06-19/11, C12P 17/00-17/18

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
 CA (STN), REGISTRY (STN), WPI/L (DIALOG), BIOSIS (DIALOG), MEDLINE,
 JICST FILE (JOIS)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO, 97/41248, A1 (Snow Brand Milk Products Co., Ltd.), 06 November, 1997 (06.11.97) & EP, 1001035, A1 & AU, 9724081, A	1-11
A	UBUTAKA, M. et al., "Structure Elucidation of Liposidomycins, a Class of Complex Lipid Nucleotide Antibiotics", J. Org. Chem. (20 November, 1992) Vol.57, No.24, pp.6392-6403	1-11
A	KNAPP, S. et al., "SYNTHESIS OF THE LIPOSIDOMYCIN DIAZEPANONE", Tetrahedron Lett. (15 September, 1992) Vol.33, No.38, pp.5485-5486	1-11
A	JP, 2-306992, A (RIKAGAKU KENKYUSHO), 20 December, 1990 (20.12.90) (Family: none)	1-11
A	KIMURA, K. et al., "Liposidomycin C Inhibits Phospho-N-acetylmuramyl-pentapeptide Transferase in Peptidoglycan Synthesis of <i>Escherichia coli</i> Y-10", Agric. Biol. Chem. (01 August, 1989) Vol.53, No.7, pp.1811-1815	1-11

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not
considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing
date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is
cited to establish the publication date of another citation or other
special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other
means

"P" document published prior to the international filing date but later
than the priority date claimed

"T"

later document published after the international filing date or
priority date and not in conflict with the application but cited to
understand the principle or theory underlying the invention

"X"

document of particular relevance; the claimed invention cannot be
considered novel or cannot be considered to involve an inventive
step when the document is taken alone

"Y"

document of particular relevance; the claimed invention cannot be
considered to involve an inventive step when the document is
combined with one or more other such documents, such
combination being obvious to a person skilled in the art

"&"

document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
07 November, 2000 (07.11.00)

Date of mailing of the international search report
21 November, 2000 (21.11.00)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/05415

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	M. UBUKATA, "Shinki Kousei Busshitsu no Kagakuteki Kenkyuu", Journal of Japan Society for Bioscience, Biotechnology and Agrochemistry (JSBA), Vol.62, No.11, November, 1988 (Tokyo) pp.1629-1636	1-11
A	UBUTAKA, M. et al., "The Structure of Liposidomycin B, an Inhibitor of Bacterial Peptidoglycan Synthesis.", J. Am. Chem. Soc. (22 June, 1988) Vol.110, No.13, pp.4416-4417	1-11

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C07H 19/067, C12P 17/16, C12N 1/20, A61K 31/7072, A61P 31/04
 //(C12P 17/16, C12R 1:465) (C12N 1/20, C12R 1:465)

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C07H 19/06-19/11, C12P 17/00-17/18

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN), REGISTRY (STN), WPI/L (DIALOG), BIOSIS (DIALOG), MEDLINE, JICSTファイル (JOIS)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	WO, 97/41248, A1 (雪印乳業株式会社) 06. 11月. 1997 (06. 11. 97) & EP, 1001035, A1 & AU, 9724081, A	1-11
A	UBUKATA, M. et al. "Structure Elucidation of Liposidomycins, a Class of Complex Lipid Nucleotide Antibiotics.", J. Org. Chem. (Nov. 20, 1992) Vol. 57, No. 24, p. 6392-6403	1-11
A	KNAPP, S. et al. "SYNTHESIS OF THE LIPOSIDOMYCIN DIAZEPANONE.", Tetrahedron Lett. (Sept. 15, 1992) Vol. 33, No. 38, p. 5485-5486	1-11

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
 「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

07. 11. 00

国際調査報告の発送日

21.11.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

内田 俊生

印

4N

2937

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP, 2-306992, A (理化学研究所) 20. 12月. 1990 (20. 12. 90) (ファミリーなし)	1-11
A	KIMURA, K. et al. "Liposidomycin C Inhibits Phospho- <i>N</i> -acetylmuramyl-pentapeptide Transferase in Peptidoglycan Synthesis of <i>Escherichia coli</i> Y-10.", Agric. Biol. Chem. (Aug. 1, 1989) Vol. 53, No. 7, p. 1811-1815	1-11
A	日本農芸化学会会誌, 第62巻, 第11号, 11月. 1988 (東京) 生方 信「新規抗生物質の化学的研究」 p. 1629-1636	1-11
A	UBUKATA, M. et al. "The Structure of Liposidomycin B, an Inhibitor of Bacterial Peptidoglycan Synthesis.", J. Am. Chem. Soc. (Jun. 22, 1988) Vol. 110, No. 13, p. 4416-4417	1-11

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

From the INTERNATIONAL BUREAU

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

YAGITA, Shigeru
Bussan Building Bekkan
1-15, Nishi Shimbashi 1-chome
Minato-ku
Tokyo 105-0003
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 25 February 2002 (25.02.02)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 12315	
International application No. PCT/JP00/05415	International filing date (day/month/year) 11 August 2000 (11.08.00)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☐ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address	State of Nationality JP	State of Residence JP
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☒ the person ☐ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address MEIJI SEIKA KAISHA LTD. 4-16, Kyobashi 2-chome Chuo-ku Tokyo 104-8002 Japan	State of Nationality JP	State of Residence JP
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	

3. Further observations, if necessary:

The half share of ZAIDAN HOJIN BISEIBUTSU KAGAKU KENKYU KAI has been assigned to the company indicated in Box 2.

4. A copy of this notification has been sent to:

<input checked="" type="checkbox"/> the receiving Office	<input type="checkbox"/> the designated Offices concerned
<input type="checkbox"/> the International Searching Authority	<input checked="" type="checkbox"/> the elected Offices concerned
<input type="checkbox"/> the International Preliminary Examining Authority	<input type="checkbox"/> other:

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Akiko KOYAMA
Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Telephone No.: (41-22) 338.83.38

IS PAGE BLANK (uspto)

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner
US Department of Commerce
United States Patent and Trademark
Office, PCT
2011 South Clark Place Room
CP2/5C24
Arlington, VA 22202
ETATS-UNIS D'AMERIQUE
in its capacity as elected Office

Date of mailing: 22 February 2001 (22.02.01)	
International application No.: PCT/JP00/05415	Applicant's or agent's file reference: 12315
International filing date: 11 August 2000 (11.08.00)	Priority date: 12 August 1999 (12.08.99)
Applicant: TAKEUCHI, Tomio et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International preliminary Examining Authority on:
25 October 2000 (25.10.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

<p>The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland</p> <p>Facsimile No.: (41-22) 740.14.35</p>	<p>Authorized officer:</p> <p>J. Zahra</p> <p>Telephone No.: (41-22) 338.83.38</p>
--	--

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PCT

国際調査報告

(法 8 条、法施行規則第40、41条)
[PCT 18 条、PCT 規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 12315	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JPO0/05415	国際出願日 (日.月.年) 11.08.00	優先日 (日.月.年) 12.08.99
出願人(氏名又は名称) 財団法人 微生物化学研究会		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT 18 条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 4 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☐ 出願人が提出したものを承認する。

☒ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT 規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 _____ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

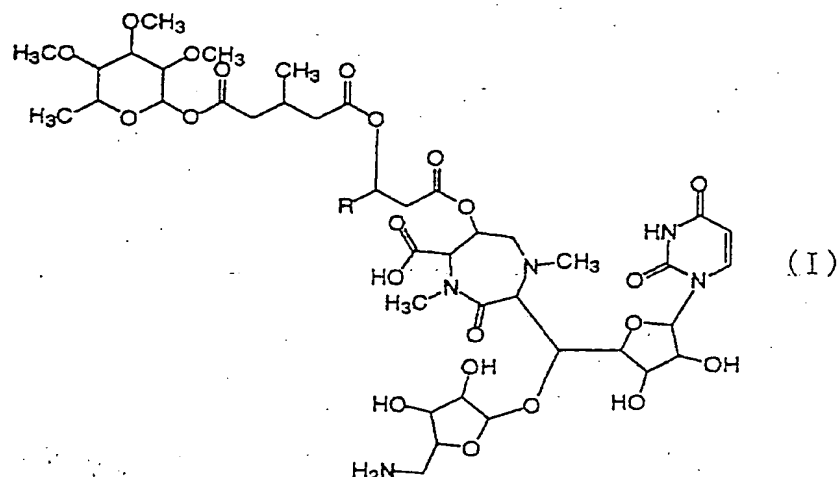
☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

THIS PAGE BLANK (uspto)

第Ⅲ欄 要約 (第1ページの5の続き)

次の一般式 (I)



[式中、Rはトリデシル基、11-メチルードデシル基等である]で示される抗生物質カプラザマイシンA～Fが、ストレプトミセス sp. MK730-62F2 (受託番号FERM BP-7218) の培養により得られた。これらカプラザマイシン類は各種の抗酸性菌、細菌およびそれらの薬剤耐性菌株に対して優れた抗菌活性を有する。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C07H 19/067, C12P 17/16, C12N 1/20, A61K 31/7072, A61P 31/04
 //(C12P 17/16, C12R 1:465) (C12N 1/20, C12R 1:465)

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C07H 19/06-19/11, C12P 17/00-17/18

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN), REGISTRY (STN), WPI/L (DIALOG), BIOSIS (DIALOG), MEDLINE, JICSTファイル (JOIS)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	WO, 97/41248, A1 (雪印乳業株式会社) 06. 11月. 1997 (06. 11. 97) & EP, 1001035, A1 & AU, 9724081, A	1-11
A	UBUKATA, M. et al. "Structure Elucidation of Liposidomycins, a Class of Complex Lipid Nucleotide Antibiotics.", J. Org. Chem. (Nov. 20, 1992) Vol. 57, No. 24, p. 6392-6403	1-11
A	KNAPP, S. et al. "SYNTHESIS OF THE LIPOSIDOMYCIN DIAZEPANONE.", Tetrahedron Lett. (Sept. 15, 1992) Vol. 33, No. 38, p. 5485-5486	1-11

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの
 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

07. 11. 00

国際調査報告の発送日

21.11.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

内田 俊生

4N

2937

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

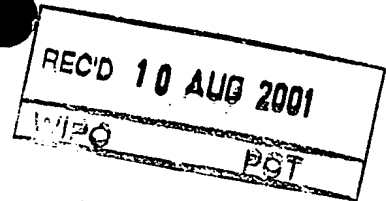
THIS PAGE BLANK (uspto)

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP, 2-306992, A(理化学研究所)20. 12月. 1990(20. 12. 90) (ファミリーなし)	1-11
A	KIMURA, K. et al. "Liposidomycin C Inhibits Phospho- <i>N</i> -acetylmuramyl-pentapeptide Transferase in Peptidoglycan Synthesis of <i>Escherichia coli</i> Y-10.", Agric. Biol. Chem. (Aug. 1, 1989) Vol. 53, No. 7, p. 1811-1815	1-11
A	日本農芸化学会会誌, 第62巻, 第11号, 11月. 1988 (東京) 生方 信「新規抗生物質の化学的研究」p. 1629-1636	1-11
A	UBUKATA, M. et al. "The Structure of Liposidomycin B, an Inhibitor of Bacterial Peptidoglycan Synthesis.", J. Am. Chem. Soc. (Jun. 22, 1988) Vol. 110, No. 13, p. 4416-4417	1-11

THIS PAGE BLANK (USPTO)


PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
(PCT36条及びPCT規則70)

出願人又は代理人 の書類記号 12315	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知（様式PCT/ IPEA/416）を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JPO0/05415	国際出願日 (日.月.年) 11.08.00	優先日 (日.月.年) 12.08.99
国際特許分類 (IPC) Int. Cl ⁷ C07H 19/067, C12P 17/16, C12N 1/20, A61K 31/7072, A61P 31/04 //(C12P 17/16, C12R 1:465) (C12N 1/20, C12R 1:465)		
出願人 (氏名又は名称) 財団法人 微生物化学研究会		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。
- ☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で ページである。
3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
- I ☒ 国際予備審査報告の基礎
- II ☐ 優先権
- III ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
- IV ☐ 発明の単一性の欠如
- V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- VI ☐ ある種の引用文献
- VII ☐ 国際出願の不備
- VIII ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 25.10.00	国際予備審査報告を作成した日 25.07.01	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 本間 夏子 	4N 2937
電話番号 03-3581-1101 内線 3488		

THIS PAGE BLANK (USPTO)

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- | | | | | | |
|--------------------------|------------|---|-------|--------|----------------------|
| <input type="checkbox"/> | 明細書 | 第 | _____ | ページ、 | 出願時に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> | 明細書 | 第 | _____ | ページ、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> | 明細書 | 第 | _____ | ページ、 | 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> | 請求の範囲 | 第 | _____ | 項、 | 出願時に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> | 請求の範囲 | 第 | _____ | 項、 | PCT19条の規定に基づき補正されたもの |
| <input type="checkbox"/> | 請求の範囲 | 第 | _____ | 項、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> | 請求の範囲 | 第 | _____ | 項、 | 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> | 図面 | 第 | _____ | ページ/図、 | 出願時に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> | 図面 | 第 | _____ | ページ/図、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> | 図面 | 第 | _____ | ページ/図、 | 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> | 明細書の配列表の部分 | 第 | _____ | ページ、 | 出願時に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> | 明細書の配列表の部分 | 第 | _____ | ページ、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> | 明細書の配列表の部分 | 第 | _____ | ページ、 | 付の書簡と共に提出されたもの |

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

THIS PAGE BLANK

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)	請求の範囲	1 - 11	有
	請求の範囲		無
進歩性(IS)	請求の範囲	1 - 11	有
	請求の範囲		無
産業上の利用可能性(IA)	請求の範囲	1 - 11	有
	請求の範囲		無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

文献1: WO, 97/41248, A1(雪印乳業株式会社)06.11月.1997
文献2: J. Org. Chem. (Nov. 20, 1992) Vol. 57, No. 24, p. 6392-6403
文献3: Tetrahedron Lett. (Sept. 15, 1992) Vol. 33, No. 38, p. 5485-5486
文献4: JP, 2-306992, A(理化学研究所)20.12月.1990
文献5: Agric. Biol. Chem. (Aug. 1, 1989) Vol. 53, No. 7, p. 1811-1815
文献6: 日本農芸化学会会誌, 第62巻, 第11号, 11月.1988(東京) p. 1629-1636
文献7: J. Am. Chem. Soc. (Jun. 22, 1988) Vol. 110, No. 13, p. 4416-4417

請求の範囲 1 - 11

請求の範囲 1 - 11 に係る発明は、国際調査報告で引用された文献1 - 7 に対して進歩性を有する。

文献1 - 7 には、本願の一般式(I)で表されるストレプトミセス属由来のカブラザマイシンの化学構造は開示されておらず、しかもこの点は文献1 - 7 から当業者といえども容易に想到し得ないものである。

THIS PAGE BLANK (USF10)

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 12315	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP00/05415	International filing date (day/month/year) 11 August 2000 (11.08.00)	Priority date (day/month/year) 12 August 1999 (12.08.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C07H 19/067, C12P 17/16, C12N 1/20, A61K 31/7072, A61P 31/04 // (C12P 17/16, C12R 1:465) (C12N 1/20, C12R 1:465)		
Applicant ZAIDAN HOJIN BISEIBUTSU KAGAKU KENKYU KAI		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of 3 sheets, including this cover sheet.
- ☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 25 October 2000 (25.10.00)	Date of completion of this report 25 July 2001 (25.07.2001)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application:*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the claims:
pages _____, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the drawings:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**1. Statement**

Novelty (N)	Claims	1-11	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-11	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-11	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Document 1: WO, 97/41248, A1 (Snow Brand Milk Products Co., Ltd.) 6 November 1997

Document 2: J. Org. Chem., Vol. 57, No. 24, 20 November 1992, pp. 6392-6403

Document 3: Tetrahedron Lett., Vol. 33, No. 38, 15 September 1992, pp. 5485-5486

Document 4: JP, 2-306992, A (Rikagau Kenkyusho) 20 December 1990

Document 5: Agric. Biol. Chem., Vol. 53, No. 7, 1 August 1989, pp. 1811-1815

Document 6: Journal of Japan Society for Biotechnology and Agrochemistry, Vol. 62, No. 11, November 1988 (Tokyo), pp. 1629-1636

Document 7: J. Am. Chem. Soc., Vol. 110, No. 13, 22 June 1988, pp. 4416-4417

Claims 1-11

The inventions set forth in Claims 1-11 appear to involve an inventive step with respect to documents 1-7 cited in the international search report.

Documents 1-7 do not disclose the chemical structure of caprazamycins obtained from *Streptomyces* sp. represented by General Formula (I) of this application, and persons skilled in the art cannot easily conceive of these substances from the descriptions in documents 1-7.

THIS PAGE BLANK (USPTO)